



sartorius stedim
biotech

Bedienungsanleitung

BioPAT® Trace

2-Kanal Online Analysesystem



85032-541-54

Vers. 02 | 2013

Wichtiger Hinweis:

Die Daten und Informationen in diesem Handbuch wurden mit größter Sorgfalt zusammengestellt. Trotz größter Aufmerksamkeit bei der Erstellung dieses Dokumentes kann keine Garantie für eine absolute Fehlerfreiheit gegeben werden. Sollten in dieser Anleitung für Sie wichtige Informationen fehlen, sollten Sie fachliche Fehler finden oder ausführlichere Informationen zu einzelnen Bauteilen wünschen, bitten wir Sie, uns darauf hinzuweisen.

Nachdruck, Übersetzung und Vervielfältigung in jeglicher Form, auch auszugsweise, bedürfen der schriftlichen Genehmigung der Sartorius Stedim Biotech GmbH.

Adresse der Technischen Dokumentation:

Sartorius Stedim Biotech GmbH
Technische Redaktion
August-Spindler-Strasse 11
D-37079 Göttingen
E-mail: tech.pubs@sartorius-stedim.com
Internet: www.sartorius-stedim.com

Inhalt

Abbildungsverzeichnis.....	7
Tabellenverzeichnis.....	10
Zeichenerklärung	10
1. Einleitung	11
2. Produktbeschreibung BioPAT® Trace	12
2.1 Grundlagen der elektrochemischen Messtechnik.....	13
2.2 Biosensorik	14
2.3 Fluidik und Probenahme	15
2.4 Datenübertragung und Datenspeicherung.....	17
3. Allgemeine Sicherheitshinweise	18
4. Lieferumfang, Zubehör und Verbrauchsmaterial	20
4.1 Lieferumfang.....	20
4.2 Verbrauchsmaterial.....	20
4.2.1 Schlauchsets	20
4.2.2 Pufferkonzentrat	20
4.2.3 Desinfektionsmittel	21
4.2.4 Kalibrierstandardlösungen (Inhalt: 0,5 Liter).....	21
4.2.5 Membranen.....	22
4.3 Probenahmesonden	22
4.3.1 Dialysesonde (Lieferung mit Einsatzkit, 2 Membranen und Bedienungsanleitung).....	22
4.3.2 Single-Use Dialysesonde (Lieferung mit Bedienungsanleitung). ...	22
4.3.3 Filtrationssonde (Lieferung mit Einsatzkit, 1 Membran und Bedienungsanleitung).....	23
4.4 Zubehör für die Probenahmesonden	23
4.4.1 Zubehör für die Dialysesonde	23
4.4.2 Zubehör für die Filtrationssonde.....	23
4.4.3 Zubehör für die Dialyse und Filtrationssonde	24
4.5 Zubehör für das BioPAT® Trace	24

5. Aufbau und Funktion	25
5.1 Aufbau des Gerätes	25
5.2 BioPAT® Trace Messmethoden.....	29
5.2.1 Messmethode Dialyse mit der Dialysesonde.....	31
5.2.2 Messmethode Filtration mit der Filtrationssonde.....	33
5.3 Funktion der Messzelle.....	34
5.4 Funktion des Partikelfilters.....	35
5.5 Funktion des Diffusionsmoduls	36
5.6 Funktion der Dialysesonde	37
5.7 Funktion der Filtrationssonde.....	38
5.8 Funktion des Enzymreaktors	39
5.9 Temperaturkorrektur.....	39

6. Inbetriebnahme	40
6.1 Transport	40
6.2 Aufstellung	40
6.2.1 Aufstellung des Gerätes	40
6.2.2 Verschlauchung des Gerätes	42
6.2.3 Montage des Schlauchsets Filtration	45
6.2.4 Montage des Schlauchsets für die Betriebsart Dialyse	51
6.2.5 Anschluss und Ausbau des Enzymreaktors	52
6.2.6 Anschluss der Dialysesonde	55
6.2.6.1 Montage der Dialysemembran in der Dialysesonde	55
6.2.6.2 Installation der Dialysesonde im Bioreaktor	58
6.2.6.3 Sterilisation der Dialysesonde vor dem Anschluss an das BioPAT® Trace	58
6.2.6.4 Anbindung der Dialysesonde an das Schlauchset	60
6.2.6.5 Reinigung der Dialysesonde und Wechsel der Membran	61
6.2.7 Anschluss der Filtrationssonde	62
6.2.7.1 Beschreibung des Aufbaus	64
6.2.7.2 Optionales Zubehör	65
6.2.7.3 Montage der Filtrationssonde	66
6.2.7.4 Hydrophilisierung der Polypropylenmembran	68
6.2.7.5 Dichtigkeitsprüfung	68
6.2.7.6 Verwendung des Hydrophilisierungs-Sets	69
6.2.7.6.1 Beschreibung des Aufbaus	70
6.2.7.6.2 Durchführung der Hydrophilisierung	70
6.2.7.6.3 Durchführung der Dichtigkeitsprüfung	72
6.2.7.6.4 Durchführung der Regenerierung der Filtrationssonde nach der Fermentation	73
6.2.7.7 Einbau im Bioreaktor	74
6.2.7.8 In-line Sterilisation der Filtrationssonde	75
6.2.7.9 Anbindung der Filtrationssonde an das Schlauchset	76
6.3 Laden der Software und Netzwerkanschluss	77
6.3.1 Problembeseitigung	80
6.4 Installation der PC-Software	81
6.5 Ändern der Start-Einstellungen	81
6.6 Belegung der Analogausgänge	82
6.7 Inbetriebnahme des Gerätes	83
6.8 Außerbetriebnahme	84

7. Bedienung	85
7.1 Menüleiste	92
7.1.1 Menüpunkt Datei	92
7.1.2 Menüpunkt Gerät	93
7.1.2.1 Anbinden	93
7.1.2.2 Inbetriebnahme	95
7.1.2.3 Anhalten	95
7.1.3 Menüpunkt Anzeige	97
7.1.3.1 Darstellung bearbeiten	99
7.1.4 Menüpunkt Einstellungen	101
7.1.4.1 Parameter	102
7.1.4.2 Grundeinstellung	106
7.1.4.3 Sprache	107
7.1.5 Menüpunkt Information	107
7.2 Statusmeldungen der LED	108
8. Tipps und Checkliste	109
8.1 Auswahl der geeigneten Standardlösungen	109
8.2 Dialyse-Modus: Referenzierung zu Beginn einer Fermentation	109
8.3 Dialyse-Modus: Referenzierung bei niedrigen Laktat-Konzentrationen	110
8.4 Vermeidung von Kontaminationen im Schlauchset	111
8.5 Datenimport in Excel	112
9. Hilfe bei Störungen	119
10. Instandhaltung	124
10.1 Gerät	124
10.2 Schlauchset	124
11. Anhang	125
11.1 Datenblatt	125

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Enzymatische Umsetzung von Glukose mit paralleler anodischer Oxidation von H_2O_2	14
Abbildung 2:	Enzymatische Umsetzung von Laktat mit paralleler anodischer Oxidation von H_2O_2	14
Abbildung 3:	Enzymatische Umsetzung von Methanol Ethanol mit paralleler anodischer Oxidation von H_2O_2	15
Abbildung 4:	Prinzip der Fließdiffusionstechnik	16
Abbildung 5:	Fließschema zur Erläuterung der Fließdiffusionsanalytik.	17
Abbildung 6:	Frontansicht BioPAT® Trace mit folgenden Baugruppen.	25
Abbildung 7:	Seitenansicht des BioPAT® Trace mit folgenden Baugruppen	26
Abbildung 8:	Rückseitige Ansicht des BioPAT® Trace mit folgenden Elementen. .	27
Abbildung 9:	Prinzip der Probezuführung über die Dialyse-sonde am BioPAT® Trace	30
Abbildung 10:	Fließschema der Online-Dialysemethode	31
Abbildung 11:	Fließschema der Online-Filtrationsmethode	33
Abbildung 12:	Messzelle mit Spülleitung	34
Abbildung 13:	Schematischer Aufbau und Befestigung des Diffusionsmoduls ...	36
Abbildung 14:	Funktionsprinzip der Dialyse-sonde	37
Abbildung 15:	Filtrationssonde zur sterilen Probenentnahme aus Bioreaktoren ..	38
Abbildung 16:	AOD-Enzymreaktor.	39
Abbildung 17:	Ansicht eines Schlauchsets für die Betriebsart Filtration.	42
Abbildung 18:	Ansicht einer fertig bestückten Frontseite für die Betriebsart Filtration	45
Abbildung 19:	Spannen und Ausrichten der Schlauchpaare in der Führungsplatte	45
Abbildung 20:	Positionierung der Ventilschläuche am Gerät.	46
Abbildung 21:	Spannen und Einlegen des Schlauchpaares.	46
Abbildung 22:	Spannen und Einlegen des Schlauchpaares.	46
Abbildung 23:	Sichern der Ventilschläuche durch Zusammenschieben der Führungsplatten.	47
Abbildung 24:	Aufstecken der unteren Pumpenkassette P2 und der oberen Pumpenkassette P1	47
Abbildung 25:	Aufstecken der unteren Pumpenkassette P2 und der oberen Pumpenkassette P1	47
Abbildung 26:	Korrekturer Sitz der Pumpenkassette (eingerasteter Befestigungszapfen)	48
Abbildung 27:	Komplett montierte Seitenplatte	48

Abbildung 28:	Einsetzen der Messzelle am Gerät.....	49
Abbildung 29:	Fixieren der Messzelle am Gerät.....	49
Abbildung 30:	Fixieren des Diffusionsmoduls an der Befestigungsschiene.....	50
Abbildung 31:	Einstecken der Tropfenzähler in die Halterung.....	50
Abbildung 32:	Montageort für 3-Wege Hahn.....	51
Abbildung 33:	3-Wege Hahn und Spritze montiert.....	51
Abbildung 34:	Einbaustelle für den Enzymreaktor.....	53
Abbildung 35:	Befestigen des Enzymreaktors.....	53
Abbildung 36:	Fertig eingebauter Enzymreaktor.....	54
Abbildung 37:	Wechsel der Membran in der Dialysesonde für die Applikation Glukose Laktat.....	55
Abbildung 38:	Einlegen der Membran.....	56
Abbildung 39:	Einbau der Sondenbrille.....	56
Abbildung 40:	Anziehen der 2 Schrauben.....	56
Abbildung 41:	Einlegen der Gleitscheibe und O-Ring.....	58
Abbildung 42:	Füllen der Sonde mit Pufferlösung.....	58
Abbildung 43:	Verschließen der Sonde vor dem Sterilisieren.....	58
Abbildung 44:	Anbindung der Dialysesonde an das Schlauchset.....	60
Abbildung 45:	Anbindung der Dialysesonde an das Schlauchset.....	60
Abbildung 46:	Filtrationssonden in 12 mm und 25 mm Bauweise.....	63
Abbildung 47:	Bestandteile der Filtrationssonde zum Einbau in den 12 mm Deckelport mit PG 13.5 Anschluss.....	64
Abbildung 48:	Filtrationssonde mit Adapter M26x1.....	65
Abbildung 49:	Filtrationssonde mit Adapter RD 28x1/8".....	65
Abbildung 50:	Einlegen der Ferrule.....	66
Abbildung 51:	Aufstecken der Polypropylen Membran.....	66
Abbildung 52:	Einlegen des O-Rings.....	67
Abbildung 53:	Anziehen der Überwurfmutter.....	67
Abbildung 54:	Hydrophilisierungs-Set mit Pumpenkassette und Schlauchleitungen.....	70
Abbildung 55:	Hydrophilisierungs-Set Aufbau und Anschluss.....	70
Abbildung 56:	Startseite Filtration mit Bedienfeld für die Ansteuerung der Pumpe zur Hydrophilisierung.....	71
Abbildung 57:	Filtrationssonde mit Schlauchset.....	76
Abbildung 58:	Anbindung des Schlauchsets.....	76
Abbildung 59:	Login für Netzwerkeinstellungen.....	78
Abbildung 60:	Eingabefeld zur Netzwerkeinstellung.....	79
Abbildung 61:	Start-Einstellungen.....	81

Abbildung 62:	Analogausgänge	82
Abbildung 63:	Startseite mit Kennzeichnung der Auswahl- und Anzeigebereiche	85
Abbildung 64:	Autostart	86
Abbildung 65:	Bildschirmanzeige im Zustand „Bereitschaft“	87
Abbildung 66:	Anzeige nach Referenzmessung	88
Abbildung 67:	Aufforderung zur Entnahme einer Probe und Anschluss an den 3-Wegehahn	90
Abbildung 68:	Anschluss der externen Probe	90
Abbildung 69:	Korrekte Stellung des Dreiwegehahns	91
Abbildung 70:	Menü-Optionen „Datei“	92
Abbildung 71:	Menü-Optionen „Gerät“	93
Abbildung 72:	Gerät anbinden	94
Abbildung 73:	Verbindungsanzeige	94
Abbildung 74:	Netz durchsuchen	95
Abbildung 75:	Abfragefenster bei Neustart nach „Anhalten“	96
Abbildung 76:	Menü-Optionen „Anzeige“	97
Abbildung 77:	Bildschirmanzeige der aktuellen Kalibrierwerte	98
Abbildung 78:	Bildschirmanzeige der Statuszeile	98
Abbildung 79:	Bildschirmanzeige zur Anpassung der Messwerte-Darstellung ..	99
Abbildung 80:	Anzeige des Messwertverlaufes	100
Abbildung 81:	Menü-Optionen „Einstellungen“	101
Abbildung 82:	Eingabemaske zur Einstellung der Messparameter	102
Abbildung 83:	Umschalten der Analogausgabe	105
Abbildung 84:	Eingabemaske zur Grundeinstellung	106
Abbildung 85:	Auswahlfenster zur Spracheinstellung	107
Abbildung 86:	Datenimport der ptd-Datei in Excel. Aktivieren Sie „Alle Dateien“	112
Abbildung 87:	Datenimport der ptd-Datei in Excel „Markieren der ptd-Datei“	113
Abbildung 88:	Datenimport der ptd-Datei in Excel, Textkonvertierungs-Assistent Schritt 1	113
Abbildung 89:	Datenimport der ptd-Datei in Excel, Textkonvertierungs-Assistent Schritt 2	114
Abbildung 90:	Datenimport der ptd-Datei in Excel, Textkonvertierungs-Assistent Schritt 3	114
Abbildung 91:	Datenimport der ptd-Datei in Excel „Weitere Textimportheinstellungen“	115

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Lieferumfang für das BioPAT® Trace	20
Tabelle 2:	Verbrauchsmaterial für das BioPAT® Trace	22
Tabelle 3:	Probenahmesonden für das BioPAT® Trace	23
Tabelle 4:	Zubehör für Probenahmesonden	24
Tabelle 5:	Zubehör für das BioPAT® Trace	24
Tabelle 6:	Statusmeldungen der LED	108
Tabelle 7:	Checkliste zur Inbetriebnahme	118
Tabelle 8:	Problembeschreibung und -behebung bei BioPAT® Trace	121
Tabelle 9:	Kalibrationsfehler und deren Behebung	123
Tabelle 10:	Technisches Datenblatt	125

Zeichenerklärung



Hinweis auf nützliche Zusatzinformationen und Anwendungstipps.



Warnung vor möglichen Folgeschäden.



Warnung vor gefährlicher, elektrischer Spannung.



Warnung vor gesundheitsschädlichen oder reizenden Stoffen.

1. Einleitung

Das BioPAT® Trace ist ein 2-Kanal online Analysesystem zur Bestimmung von Glukose und L-Laktat. Es kann sowohl in mikrobiellen Fermentationsprozessen als auch bei der Kultivierung von tierischen oder humanen Zelllinien eingesetzt werden.

Bei der Analyse von Substraten in Kultivierungsmedien ist es notwendig, dass eine Probe unter sterilen Bedingungen aus dem Bioreaktor (Fermenter) entnommen wird. Dabei müssen Reproduzierbarkeit und Relevanz der genommenen Probe gewahrt bleiben. Für das BioPAT® Trace stehen momentan folgende Möglichkeiten zur Probenahme zur Verfügung: Filtrationssonde und Dialysesonde. Alle Systeme erlauben eine sterilsichere Entnahme aus dem Bioreaktor.

Das BioPAT® Trace besteht aus einem kompakten Gehäuse, das dem Anwendungszweck und den Umgebungsbedingungen angepasst ist. Alle mechanischen und fluidischen Elemente sind auf der Front- bzw. auf der Seitenplatte angeordnet. Die Elektronik ist modular aufgebaut und kommuniziert über verschiedene Schnittstellen.

Die Analyse wird mit Hilfe einer Sensorik-Einheit durchgeführt, die aus einem elektrochemischen Biosensor besteht. Die Systemsteuerung und die Datenauswertung erfolgt über einen externen Computer. Die mitgelieferte Steuersoftware zeichnet sich durch eine einfache Bedienbarkeit aus.

2. Produktbeschreibung BioPAT® Trace

Das BioPAT® Trace dient der gleichzeitigen Online-Überwachung der Analyten Glukose und Laktat in Labor- oder Industriekultivierungen von Mikroorganismen und Zelllinien.

Als weitere Applikation steht die Messung von Ethanol bzw. Methanol zur Verfügung.

Unabhängig von der Kultivierungsart (Batch, Fed-Batch, kontinuierliche Kultivierung) ist eine kontinuierliche Analyse mit dem BioPAT® Trace durchführbar.

Der Messbereich am BioPAT® Trace erstreckt sich von 0,1 bis 40 g/L für Glukose, von 0,05 bis 10 g/L für Laktat, 0,5 bis 20 g/L für Methanol und 1 bis 40 g/L für Ethanol.

Die Messfrequenz liegt je nach Bedingung bei maximal 60 Analysen pro Stunde. Aufgrund des strukturierten Aufbaus und des einfachen Bedienkonzepts kann die routinemäßige Analytik nach nur kurzer Einführung durchgeführt werden.

Die Umgebungstemperatur des BioPAT® Trace kann aufgrund einer internen Temperaturkorrektur zwischen 15 und 35°C liegen. Die Umgebungsluftfeuchtigkeit sollte 90% nicht überschreiten.

Die Analyse im BioPAT® Trace erfolgt in Kombination von enzymatischer Umsetzung und elektrochemischer Detektion. Als Biosensor dient eine mit Oxidasen beschichtete 2-Kanal-Enzymelektrode bzw. eine Kombination eines Enzymreaktors mit einer Platinelektrode (Methanol | Ethanol Applikation).

Die Standzeit des Sensorsystems beträgt abhängig von der Anwendung garantierte 30 Tage bzw. 5000 Messungen. Die Abweichung vom mittleren Messwert beträgt bei einer Messung von 5 g/L Glukose bzw. 2,5 g/L Laktat weniger als 3 %.

2.1 Grundlagen der elektrochemischen Messtechnik

Ein elektrochemischer Detektor dient zum Messen eines Stromes, der bei einem bestimmten an den Elektroden angelegten Potential durch den Analyten in einer Durchfluss-Messzelle produziert wird. Der elektrochemische Umsatz der Substanz an der Arbeitselektrode führt in Gegenwart einer Elektrolytlösung zu einer Abgabe oder Aufnahme von Elektronen (Oxidation bzw. Reduktion). Die Größe des messbaren Grenzstromes hängt sowohl von Parametern des Faradayschen Gesetzes der Elektrolyse als auch des Fick'schen Diffusionsgesetzes ab und ist der Konzentration proportional.

Die Selektivität dieses sensitiven Detektors beruht darauf, dass nicht alle Stoffe elektrochemisch aktiv sind und somit viele Störsubstanzen in einer Probelösung nicht detektiert werden. Die Selektivität ist abhängig vom Material der Arbeitselektrode und dem angelegten Potential.

Um die Selektivität eines elektrochemischen Sensors weiter zu erhöhen, bietet sich eine Kombination mit Enzymen an – aus der Elektrode wird dadurch ein Biosensor.



2.2 Biosensorik

Die Analyten Glukose und Laktat werden mit Hilfe von enzymatischen Reaktionen detektiert. In Abbildung 1 ist die enzymatische Umsetzung von Glukose zu Gluconolacton aufgeführt. Bei Anwesenheit von Wasser erfolgt die sofortige Hydrolyse von Gluconolacton zu Gluconsäure. Das im ersten Schritt produzierte Wasserstoffperoxid (H_2O_2) wird durch anodische Oxidation, die zwei Elektronen freisetzt, amperometrisch detektiert. In Abbildung 2 ist die enzymatische Umsetzung von Laktat zu Pyruvat dargestellt. Auch bei dieser Reaktion wird H_2O_2 gebildet und anschließend amperometrisch detektiert.

Enzymreaktionen erfolgen nach dem „Schlüssel-Schloss-Prinzip“. Sie sind spezifisch und somit hochgradig selektiv. Die Reaktion am Enzymsystem ist also eine weitere Selektion. Die Kombination beider selektiver Prinzipien macht das BioPAT® Trace weitgehend unempfindlich gegenüber Matrixeffekten und Störstoffen.

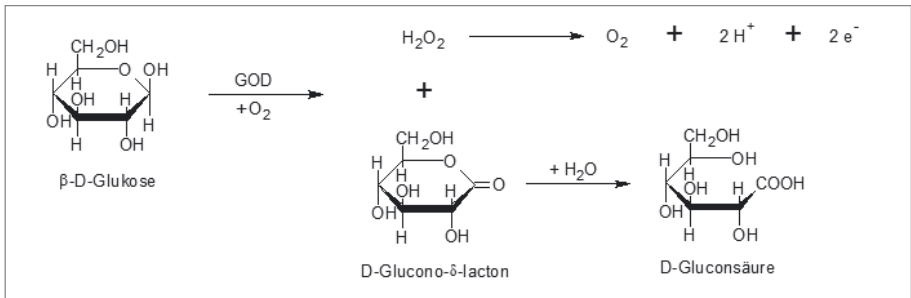


Abbildung 1: Enzymatische Umsetzung von Glukose mit paralleler anodischer Oxidation von H_2O_2

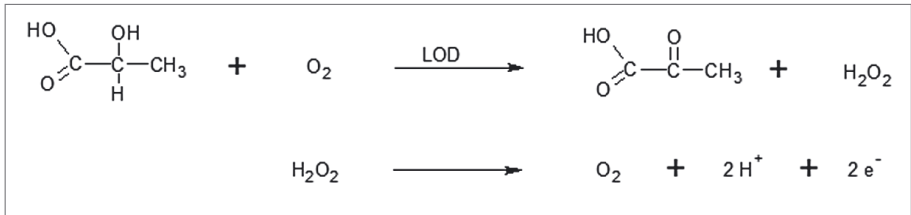


Abbildung 2: Enzymatische Umsetzung von Laktat mit paralleler anodischer Oxidation von H_2O_2

Die BioPAT® Trace Sensoren bestehen aus Platin-Dickschicht Elektroden, die dauerhaft mit den entsprechenden Enzymen (Glukoseoxidase (GOD) bzw. Laktatoxidase (LOD)) beschichtet werden. Enzym und Elektrode befinden sich dann in unmittelbarer Nähe zueinander, so dass die oben dargestellten Reaktionen direkt erfasst werden können.

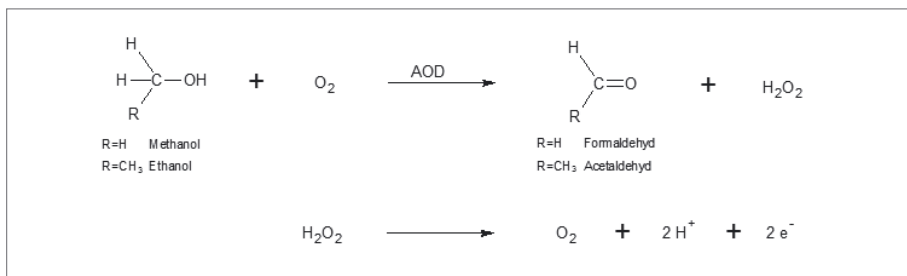


Abbildung 3. Enzymatische Umsetzung von Methanol/Ethanol mit paralleler anodischer Oxidation von H₂O₂

In Abbildung 3 ist die enzymatische Umsetzung von Methanol bzw. Ethanol zu Formaldehyd bzw. Acetaldehyd dargestellt. Als Katalysator wird das Enzym Alkoholoxidase (AOD) verwendet, die in einem Enzymreaktor in immobilisierter Form vorliegt. Das bei der Reaktion gebildete Wasserstoffperoxid (H₂O₂) wird amperometrisch detektiert. Bei dieser Methode wird der Alkohol in dem Enzymreaktor umgesetzt und die Detektion des gebildeten Wasserstoffperoxids findet auf einer Platinelektrode statt.

2.3 Fluidik und Probenahme

Zur Durchführung der jeweiligen Analyse einer Probe muss repräsentatives Material zum Biosensor transportiert werden. Dazu dient ein Fluidik-System (Schlauch-Set) bestehend aus Schlauchleitungen, Pumpen und Ventilen. Zusätzlich wird die Probe im Fluidik-System konditioniert, d.h. sie wird von möglicherweise störenden Komponenten befreit und so weit verdünnt, dass sie mit Hilfe der hochsensitiven Biosensoren sicher erfasst werden kann. Dazu dient eine Abtrennung über eine Dialysemembran, die in jedem Schlauchset als Diffusionsmodul integriert ist.

Die Probenkonditionierung beruht auf dem Verfahren der Fließdiffusionsanalyse (Abbildung 4). Diese Methode arbeitet mit einer zeitabhängigen Probeübertragung. Dazu werden die Messleitung und die Probe bzw. die Probezuführung durch eine

Membran voneinander getrennt. Die Messstrecke wird als Akzeptor (aufnehmend) und die Probeseite als Donor (gebend) bezeichnet.

Bei einer Analyse wird die Messleitung mit einem Transportpuffer durchspült, der als Akzeptorstrom für eine definierte Zeit hinter der Membran gestoppt werden kann. Dieser Vorgang erfolgt durch Umschalten eines Ventils, das eine Bypass-Strecke öffnet.

Die Analyten in der Probe diffundieren währenddessen durch die Membran hindurch und reichern sich dabei in der Aufnahmekammer an. So entsteht mit fortschreitender Dauer eine steigende Konzentration der dialysierbaren Bestandteile im Flüssigkeitssegment des Transportpuffers.

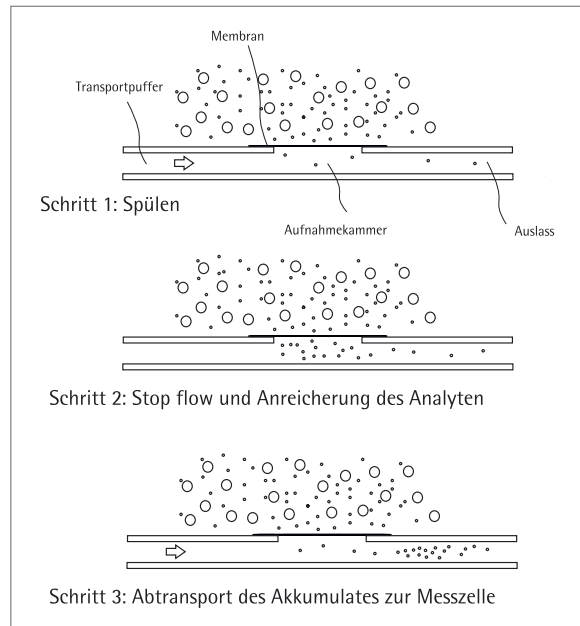


Abbildung 4: Prinzip der Fließdiffusionstechnik

Wenn dieses Segment beim Zurückschalten der Ventile frei geschaltet wird, fließt es zur Messzelle und erzeugt dort ein Signal. Die Intensität des Signals ist das Maß für die Konzentration der Probe. Ein großer Vorteil dieser Anreicherungsmethode ist der sehr breite Messbereich, der durch Variation der Diffusionszeit erreicht wird sowie der Schutz der Sensoren vor störenden Bestandteilen in der Probe.

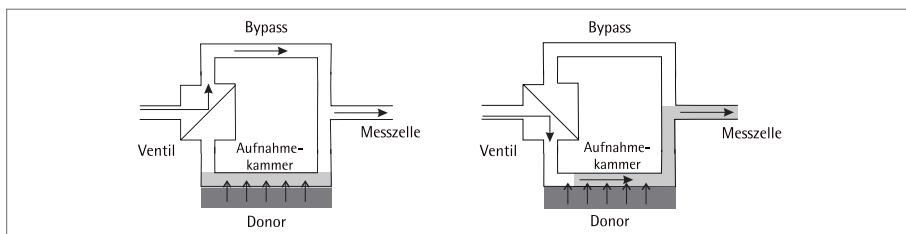


Abbildung 5: Fließschema zur Erläuterung der Fließdiffusionsanalytik

Linkes Bild: Ventilschaltung während der Basislinienermittlung und beim Beladen.

Rechtes Bild: Schaltung während des Entladens und der Signaldetektion.

2.4 Datenübertragung und Datenspeicherung

Die Anbindung des BioPAT® Trace an Datenaufzeichnungssysteme ist aufgrund einer Vielzahl von Ausgängen sehr flexibel. Neben einem Standard-Analogausgang für Signale von 0..20 mA, 0..10 V oder 4..20 mA besitzt das BioPAT® Trace einen Ethernet-Anschluss, über den das Gerät mit einem PC über ein Netzwerk verbunden werden kann. Mit Hilfe der mitgelieferten Software können die Messergebnisse grafisch dargestellt und gespeichert werden (siehe Kapitel ► „7. Bedienung“ auf Seite 85).

3. Allgemeine Sicherheitshinweise

BioPAT® Trace wurde unter Berücksichtigung einer Gefährdungsanalyse und nach sorgfältiger Auswahl der einzuhaltenden harmonisierten Normen sowie weiterer technischer Spezifikationen konstruiert und gefertigt. Es entspricht damit dem Stand der Technik und gewährleistet ein Höchstmaß an Sicherheit.

Diese Sicherheit kann in der betrieblichen Praxis jedoch nur dann erreicht werden, wenn alle dafür erforderlichen Maßnahmen getroffen werden. Es unterliegt der Sorgfaltspflicht des Betreibers, diese Maßnahmen zu planen und ihre Ausführung zu kontrollieren.

Der Betreiber muss insbesondere sicherstellen, dass

- das BioPAT® Trace nur bestimmungsgemäß verwendet wird (vgl. hierzu Kapitel ► „2. Produktbeschreibung BioPAT® Trace“ auf Seite 12),
- das BioPAT® Trace nur in einwandfreiem, funktionstüchtigem Zustand betrieben wird,
- die Betriebsanleitung stets in einem leserlichen Zustand und vollständig am Einsatzort zur Verfügung steht,
- nur ausreichend qualifiziertes Personal das BioPAT® Trace wartet und repariert.

Die in der Bedienungsanleitung verwendeten Symbole sollen vor allem auf die Sicherheitshinweise aufmerksam machen! Das jeweils verwendete Symbol kann den Text des Sicherheitshinweises nicht ersetzen. Der Text ist daher immer vollständig zu lesen!



Hinweis auf nützliche Zusatzinformationen und Anwendungstipps.



Warnung vor möglichen Folgeschäden.



Warnung vor gefährlicher, elektrischer Spannung.



Warnung vor gesundheitsschädlichen oder reizenden Stoffen.

4. Lieferumfang, Zubehör und Verbrauchsmaterial

4.1 Lieferumfang

Beschreibung	Bestell-Nr.
Gerät BioPAT® Trace mit Netzteil, Netzsteckern (Europa, USA, UK), Cross-over Ethernetkabel, Bedienungsanleitung und PC-Software (trace_mon)	BPT0001

Tabelle 1: Lieferumfang für das BioPAT® Trace

4.2 Verbrauchsmaterial

4.2.1 Schlauchsets

Beschreibung	Bestell-Nr.
Schlauchset Dialyse (Glukose Laktat)	BPT0003
Schlauchset Filtration (Glukose Laktat)	BPT0004
Schlauchset Filtration (Glukose Laktat cellulasestabil)	BPT0005
Schlauchset Dialyse (Ethanol Methanol)	BPT0050
Schlauchset Filtration (Ethanol Methanol)	BPT0049
Enzymreaktor für Applikation Ethanol Methanol	BPT0048

4.2.2 Pufferkonzentrat

Beschreibung	Bestell-Nr.
Pufferkonzentrat 20× (für Zellkultivierungen), Applikation Glukose Laktat; Inhalt: 0,5 Liter	BPT0006
Pufferkonzentrat 5× (für mikrobielle Kultivierungen), Applikation Glukose Laktat; Inhalt: 1 Liter	BPT0060
Pufferkonzentrat 5×, Applikation Methanol Ethanol; Inhalt: 1 Liter	BPT0046

4.2.3 Desinfektionsmittel

Beschreibung	Bestell-Nr.
Desinfektionsmittel Konzentrat, Inhalt: 1 Liter	BPT0044

4.2.4 Kalibrierstandardlösungen (Inhalt: 0,5 Liter)

Beschreibung	Bestell-Nr.
Kalibrierstandard 0,1 g/L Glukose, 0,05 g/L Laktat	BPT0043
Kalibrierstandard 0,5 g/L Glukose, 0,25 g/L Laktat	BPT0011
Kalibrierstandard 1 g/L Glukose, 0,5 g/L Laktat	BPT0010
Kalibrierstandard 2 g/L Glukose, 1 g/L Laktat	BPT0009
Kalibrierstandard 4 g/L Glukose, 2 g/L Laktat	BPT0008
Kalibrierstandard 10 g/L Glukose, 5 g/L Laktat	BPT0007
Kalibrierstandard 20 g/L Glukose, 10 g/L Laktat	BPT0041
Kalibrierstandard 0,2 g/L Methanol	BPT0051
Kalibrierstandard 1 g/L Methanol	BPT0052
Kalibrierstandard 5 g/L Methanol	BPT0053
Kalibrierstandard 20 g/L Methanol	BPT0054
Kalibrierstandard 0,5 g/L Ethanol	BPT0058
Kalibrierstandard 2 g/L Ethanol	BPT0057
Kalibrierstandard 4 g/L Ethanol	BPT0056
Kalibrierstandard 40 g/L Ethanol	BPT0055

4.2.5 Membranen

Beschreibung	Bestell-Nr.
Membranen (Glukose Laktat) für die Dialysesonde (Inhalt: 5 Stück)	BPT0024
Membranen (Glukose Laktat/cellulasestabil) für die Dialysesonde (Inhalt: 5 Stück)	BPT0040
Membranen (Ethanol Methanol) für die Dialysesonde (Inhalt: 5 Stück)	BPT0047
Membran für die Filtrationssonde, Länge: 130 mm	BPT0025
Membran für die Filtrationssonde, Länge: 90 mm	BPT0037

Tabelle 2: Verbrauchsmaterial für das BioPAT® Trace

4.3 Probenahmesonden

4.3.1 Dialysesonde (Lieferung mit Einsatzkit, 2 Membranen und Bedienungsanleitung)

Beschreibung	Bestell-Nr.
Dialysesonde Länge: 132 mm	BPT0014
Dialysesonde Länge: 165 mm	BPT0015
Dialysesonde Länge: 212 mm	BPT0016
Dialysesonde Länge: 232 mm	BPT0017
Dialysesonde Länge: 332 mm	BPT0018
Dialysesonde Länge: 362 mm	BPT0019
Dialysesonde Länge: 432 mm	BPT0020

4.3.2 Single-Use Dialysesonde (Lieferung mit Bedienungsanleitung)

Beschreibung	Bestell-Nr.
Single-Use Dialysesonde ContiTRACE	BPT0002

4.3.3 Filtrationssonde (Lieferung mit Einsatzkit, 1 Membran und Bedienungsanleitung)

Beschreibung	Bestell-Nr.
Filtrationssonde für den Deckelport 12 mm mit Klemmverschraubung PG13,5, Membranlänge 130 mm	BPT0021
Filtrationssonde für den Deckelport 12 mm mit Klemmverschraubung PG13,5 (um 100 mm verlängerte Einbautiefe), Membranlänge 130 mm	BPT0022
Filtrationssonde für den Seitenport 25 mm mit Absperrhahn, Membranlänge 130 mm	BPT0023
Filtrationssonde für den Seitenport 25 mm mit Absperrhahn, Membranlänge 90 mm	BPT0036

Tabelle 3: Probenahmesonden für das BioPAT® Trace

4.4 Zubehör für die Probenahmesonden

4.4.1 Zubehör für die Dialysesonde

Beschreibung	Bestell-Nr.
Einsatzkit Dialysesonde	BPT0045
Adapter 25/12 mm für den Einbau der Dialysesonde 165 mm in den 25 mm Seitenport (Ingold Stutzen 52 mm) inkl. O-Ringe	BB-38242540

4.4.2 Zubehör für die Filtrationssonde

Beschreibung	Bestell-Nr.
Einsatzkit Filtrationssonde	BPT0059
Schlauchset zur Hydrophilisierung von Filtrationsmembranen	BPT0042
Membranschutzkäfig für die Filtrationssonde zum Einbau in 25 mm Seitenport mit Membranlänge 130 mm (Verlängerung der Einbautiefe um ca. 25 mm)	BPT0038
Membranschutzkäfig für die Filtrationssonde zum Einbau in 25 mm Seitenport mit Membranlänge 90 mm (Verlängerung der Einbautiefe um ca. 25 mm)	BPT0039

4.4.3 Zubehör für die Dialyse und Filtrationssonde

Beschreibung	Bestell-Nr.
Klemmverschraubung PG13,5 mit O-Ring und Gleitscheibe	BPT0061
Adapter 19/12 mm für den Einbau der Dialyse- und Filtrationssonde in den 12 mm Deckelport (M26x1); inkl. O-Ringe	BB-8848630
Adapter 19/12 mm für den Einbau der Dialyse- und Filtrationssonde in den 12 mm Deckelport (RD28x1/8")	BB-34104704
O-Ring (außen) für Adapter RD28x1/8"	BB-39120830
O-Ring (innen) für Adapter RD28x1/8"	BB-39121054

Tabelle 4: Zubehör für Probenahmesonden

4.5 Zubehör für das BioPAT® Trace

Beschreibung	Bestell-Nr.
Stativ	BPT0012
Stativklemme	BPT0013
Ersatz Rändelmutter für Messzelle	BPT0026
Netzteil	BPT0027
Netzkabel (EU, UK, USA)	BPT0028

Tabelle 5: Zubehör für das BioPAT® Trace

5. Aufbau und Funktion

5.1 Aufbau des Gerätes

Das BioPAT® Trace ist ein Online-Analysesystem in einem kompakten Metallgehäuse. Die Kommunikation mit dem Anwender erfolgt über einen externen Computer. Die Front- und die Seitenplatten sind gemäß Abbildung 6 und Abbildung 7 mit den Elementen des vorkonfektionierten Schlauchsets für die Analyse bestückt.

Die Aktorik- und Sensorikelemente befinden sich außen am Gehäuse. Über eine Pumpe (1 b) werden dem Analysesystem Standard- oder Probelösung zugeführt. Eine Auswahl der zu fördernden Lösungen ermöglicht eines der Quetschventile (3).

Der Pufferstrom wird mit Hilfe der oberen Pumpe (1 a) transportiert. In einem Partikelfilter (2) werden kleinere Teilchen und Luftblasen aus dem Pufferstrom entfernt.

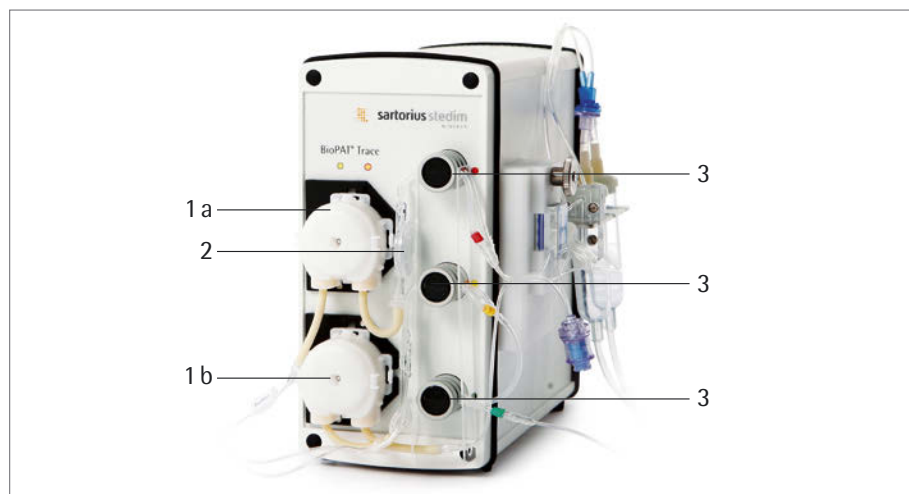


Abbildung 6: Frontansicht BioPAT® Trace mit folgenden Baugruppen:

Pos.	Baugruppe
1 a b	Pumpenkassetten (2 Stück)
2	Partikelfilter
3	Quetschventile (3 Stück)

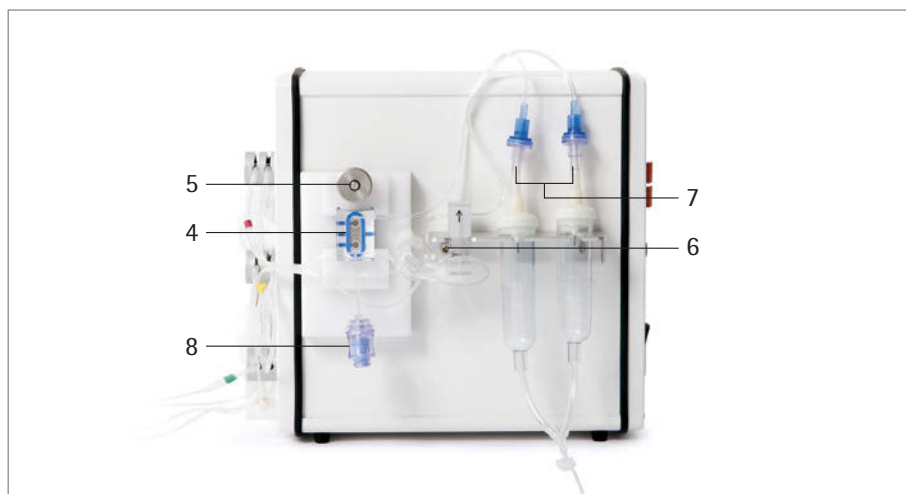


Abbildung 7: Seitenansicht des BioPAT® Trace mit folgenden Baugruppen:

Pos.	Baugruppe
4	Messzelle
5	Rändelmutter zur Befestigung der Messzelle
6	Diffusionsmodul
7	Tropfenzähler
8	Spüleleitung mit Rückschlagventil

Die Anreicherung eines Segments der Pufferlösung mit dem Analyten aus dem Donorstrom erfolgt im Diffusionsmodul (6). Nach einer zeitabhängigen Anreicherung im Diffusionsmodul (6) fließt der Akzeptorstrom in die Messzelle (4) zur Detektion des Analytgehalts. Die Messzelle ist mit einer Halteplatte fixiert, die durch eine Rändelmutter (5) gelöst bzw. befestigt werden kann. Des Weiteren ist an der Messzelle eine Spüleleitung mit Rückschlagventil (8) befestigt. Bevor die Lösungen in den Abfall transportiert werden, durchlaufen sie jeweils einen Tropfenzähler (7).

Die rückseitige Ansicht des BioPAT® Trace ist in Abbildung 8 dargestellt. Durch das Betätigen des Netzschalters (9) kann das Gerät ein- bzw. ausgeschaltet werden. Das elektrochemische Signal des Biosensors wird mit Hilfe der Kalibrierdaten intern zu einem Konzentrationswert umgerechnet. Die Ausgabe des Messwertes erfolgt nach Abschluss der Analyse über einen an den Ethernet-Anschluss (10) angeschlossenen PC. Es besteht die Möglichkeit, die Signale über die analogen Signalausgänge (12) ausgeben zu lassen. Folgende Bereiche sind möglich: 0..10 V, 0..20 mA, 4..20 mA. Die USB-Schnittstelle (11) sowie die serielle Schnittstelle (RS232) (13) können ebenfalls zur Datenübertragung genutzt werden (derzeit nicht realisiert).

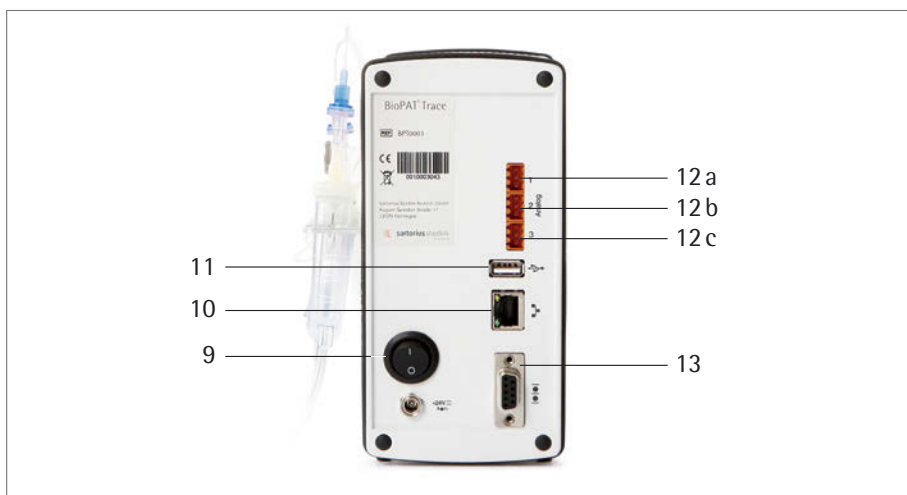


Abbildung 8: Rückseitige Ansicht des BioPAT® Trace mit folgenden Elementen:

Pos.	Funktion
9	Netzschalter
10	Ethernet-Anschluss
11	USB-Schnittstelle
12 a b c	Analoge Ausgänge (1–3)
13	Serielle Schnittstelle

Das BioPAT® Trace kann optional an Laborstative, Haltestangen oder Tischständer befestigt werden. Eine entsprechende Stativklemme sowie ein passendes Tischstativ sind als Zubehör erhältlich.



An den analogen Datenausgängen auf der Rückseite des BioPAT® Trace darf auf keinen Fall eine Spannungsquelle angeschlossen werden. Darunter fällt auch ein Multimeter zur Widerstandsmessung.

Wird ein Multimeter zur Messung der Spannung oder der Stromstärke eingesetzt, so sind vor dem Wechsel des Messbereichs am Multimeter die Kontakte zum BioPAT® Trace zu entfernen. Andernfalls besteht die Gefahr einer Beschädigung des Gerätes.

5.2 BioPAT® Trace Messmethoden

Das BioPAT® Trace ermöglicht zwei Online-Probenahme-Methoden

- Filtration mit Filtrationssonde,
- Dialyse mit Dialysesonde.

Die einfachste Methode stellt die direkte Vermessung einer filtrierten Medium-Probe dar. Der Anwendungsbereich ist jedoch wegen des Verbrauchs an Reaktormedium auf Prozesse beschränkt, bei denen genügend Reaktorvolumen zur Verfügung steht oder kontinuierlich gefüttert wird.

Für Prozesse, bei denen aufgrund des Reaktorvolumens nicht genügend Probematerial zur Verfügung steht, bietet sich eine Probenahme mittels Dialyse an. Diese Methode entfernt nur niedermolekulare Stoffe aus dem Reaktormedium ohne dabei das Flüssigkeitsvolumen zu verringern. Abbildung 9 zeigt beispielhaft eine photographische Darstellung der Ankopplung des BioPAT® Trace an einen Bioreaktor über eine Dialysesonde.

Nähere Erläuterungen zu den Probenahmesonden finden Sie in den Kapiteln

- „5.6 Funktion der Dialysesonde“ auf Seite 37,
- „5.7 Funktion der Filtrationssonde“ auf Seite 38.



Abbildung 9: Prinzip der Probezuführung über die Dialysesonde am BioPAT® Trace

5.2.1 Messmethode Dialyse mit der Dialysesonde

Bei der Messmethode Dialyse mit der Dialysesonde findet die Analytübergabe durch eine Dialysemembran in der Dialysesonde statt, die den Reaktorinhalt (Medium) vom Akzeptorstrom trennt. Gleichzeitig stellt die Dialysemembran die Sterilbarriere dar. Abbildung 10 zeigt schematisch das Fließsystem.

Mit dem Kalibrier-Ventil (grün) und dem 3-Wege Hahn wird zwischen den Standards und der manuellen Probe ausgewählt. Mit dem Proben-Ventil (rot) und dem Bypass-Ventil (gelb) werden die Dialysesonde und das Diffusionsmodul selektiert.

Der obere Teil des Fließsystems stellt den Donorstrom dar, der für die Zuführung der Kalibrierlösung zum Diffusionsmodul zuständig ist. Der Trägerstrom akkumuliert je nach Aufgabe den Analyten im Diffusionsmodul oder der Dialysesonde.

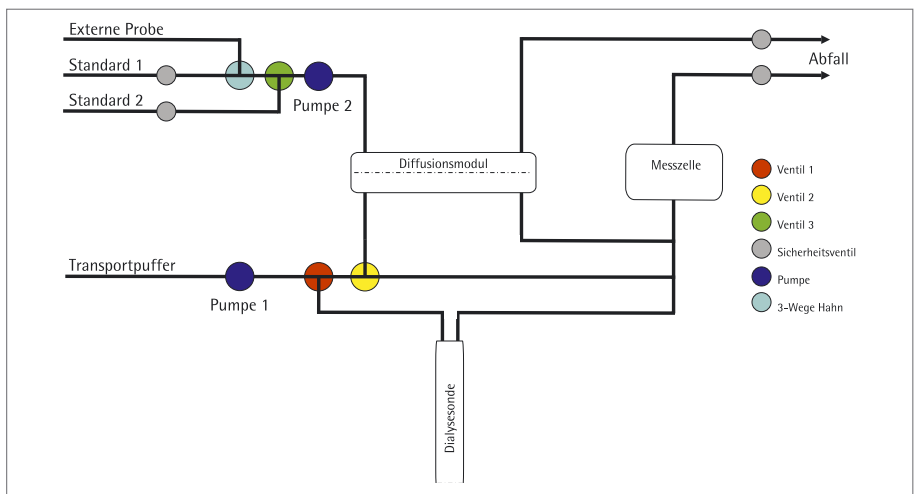


Abbildung 10: Fließschema der Online-Dialysemethode

Bei der Dialysemethode erfolgt die Kalibrierung des BioPAT® Trace über das interne Diffusionsmodul. Die Messung der Probe verläuft dagegen stets über die Dialysesonde im Bioreaktor. Zwischen den beiden Membranen wird einmalig ein Referenzfaktor ermittelt.

Da kein Standard in den Bioreaktor eingebracht werden kann, muss die Kalibrierung des BioPAT® Trace durch den Referenzfaktor indirekt erfolgen. Dabei wird die Anfangskonzentration im Bioreaktor als Startkonzentration für die Dialysesonde verwendet. Aus den Probe-Messwerten mit identischer Konzentration berechnet BioPAT® Trace den Faktor zwischen der Membran des Diffusionsmoduls und der Membran in der Dialysesonde.

Der Ablauf zur Kalibrierung der Dialysemethode umfasst somit insgesamt drei Schritte:

Schritt 1:

Aufnahme der Kalibriergeraden am Diffusionsmodul mit Standard 1 und 2

Schritt 2:

Messung der externen Probe am BioPAT® Trace mit Hilfe der Kalibriergeraden (Alternativ: direkte Eingabe der Konzentrationswerte, falls durch Einwaage oder externe Analyse bekannt)

Schritt 3:

Aufnahme der Kalibriergeraden der Dialysesonde über die Sonde

Nach Vermessung der Standards zur Berechnung der Kalibriergeraden errechnet das BioPAT® Trace einen Faktor aus den Steigungen der einzelnen Geraden. Dieser Faktor wird bei allen Messungen über die Dialysesonde zur Berechnung der realen Konzentration herangezogen.

5.2.2 Messmethode Filtration mit der Filtrationssonde

Bei der Messmethode Filtration erfolgt die Probenahme aus dem Bioreaktor über die Filtrationssonde. Dabei findet die Probeübergabe in den Pufferstrom mittels Diffusion im Diffusionsmodul statt. Mit dem Kalibrier-Ventil (gelb) und dem Proben-Ventil (grün) wird zwischen den Kalibrierlösungen und der Filtrationssonde ausgewählt. Mit dem Bypass-Ventil (rot) werden das Diffusionsmodul und der Bypass selektiert. Abbildung 11 zeigt schematisch das Fließsystem.

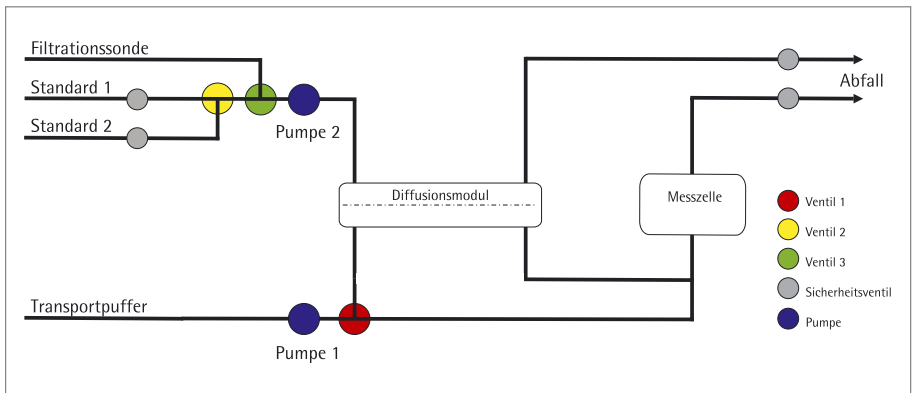


Abbildung 11: Fließschema der Online-Filtrationsmethode

Die Kalibrierung des BioPAT® Trace und die Messung einer Probe erfolgen bei der Online-Filtrationsmethode stets unter Verwendung des Diffusionsmoduls. Aus einer Mehrfachmessung der Kalibrierstandards 1 und 2 berechnet das BioPAT® Trace die Regressionsgerade inklusive Nullpunkt und Steigung. Die Berechnung der Probenkonzentration erfolgt wiederum auf Basis der Kalibriergeraden.



Abbildung 12:
Messzelle mit Spülleitung

5.3 Funktion der Messzelle

In der Messzelle befinden sich die Biosensoren für Glukose und Laktat. Die Messzelle ist in Abbildung 12 dargestellt. Der 2-Kanal-Sensor wird senkrecht von der Flüssigkeit angeströmt („wall-jet“-Prinzip). Durch das Sichtfenster lässt sich ein luftblasenfreier Durchfluss der Zelle kontrollieren. Gegebenenfalls können Luftblasen durch das Spülen der Messkammer entfernt werden. Die Flüssigkeit wird dazu durch die Spülleitung mit Rückschlagventil gespritzt.

Das an den Elektroden messbare elektrische Signal wird von den Federkontakten abgegriffen und in das BioPAT® Trace weitergeleitet. Durch eine Rändelmutter wird die Messzelle am Gerät fixiert.



Es ist darauf zu achten, dass sich während der Messung keine Luftblasen in der Messkammer der Fließzelle befinden, da diese das Messergebnis verfälschen. Nach Anschluss der Probenahmesonde und vor dem Start jeder Messreihe ist die Messzelle durch das Sichtfenster auf Luftblasen zu überprüfen. Falls vorhanden, sind diese mit Hilfe der Spülleitung zu entfernen.



Verwenden Sie zum Spülen der Messzelle nur Transportpuffer oder destilliertes Wasser! Andere Flüssigkeiten können den Sensor schädigen. Verwenden Sie nur frische Lösungen und | oder einen Sterilfilteraufsatz, um den Eintrag von Keimen in das Schlauchset zu vermeiden!

5.4 Funktion des Partikelfilters

Der Partikelfilter ist Teil des Schlauchsets. Er erfüllt zwei Aufgaben im BioPAT® Trace. Über die Membran mit einer Porenweite von 0,22 µm erfolgt zunächst eine Sterilfiltration der Pufferlösung. Bevor die Lösung das Modul verlässt, wird an einer zweiten Membran eine Entgasung vorgenommen. Mit Hilfe des Partikelfilters ist somit ein partikel- und luftblasenfreier Akzeptorstrom im BioPAT® Trace gewährleistet.



Zum sicheren Betrieb des Messgerätes muss das Schlauchset inklusive Partikelfilter regelmäßig ausgetauscht werden.

5.5 Funktion des Diffusionsmoduls

Das Diffusionsmodul ist Teil des Schlauchsets. Über das Diffusionsmodul werden dem Analysesystem die Standardlösungen bzw. eine externe Probe zugeführt. Eine Membran ermöglicht die Diffusion des Substrats aus den Donorlösungen (Standards und Probe) in die Pufferlösung (Akzeptor). Die verschiedenen Membranmaterialien ermöglichen Dialyse, cellulase stabile Dialyse und Gasdiffusion zur Abtrennung der Substrate. Einen schematischen Aufbau zeigt Abbildung 13.

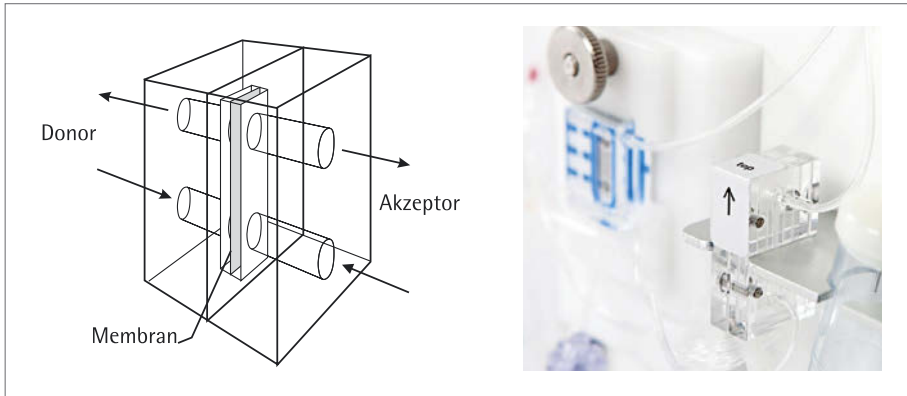


Abbildung 13: Schematischer Aufbau und Befestigung des Diffusionsmoduls

Das Modul ist aus PMMA gefertigt. Es besitzt eine Diffusionsfläche von 20 mm^2 und gewährleistet einen ausreichenden Stoffaustausch zwischen Donor- und Akzeptorstrom. Der Zulauf des Donor- und Akzeptorstroms erfolgt jeweils am unteren Eingang des Moduls. Der Ablauf befindet sich oben.



Für einen zuverlässigen Betrieb des Messgeräts muss das Diffusionsmodul in der korrekten Lage an der Halteplatte befestigt werden (Pfeil zeigt nach oben).

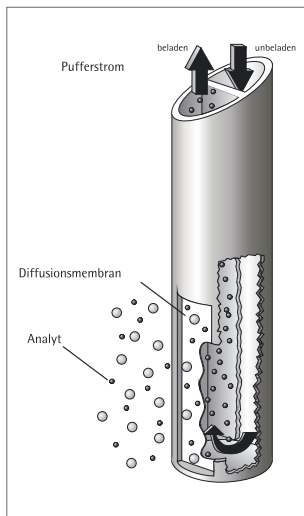


Abbildung 14: Funktionsprinzip der Dialysesonde

5.6 Funktion der Dialysesonde

Erfolgt die Probezuführung aus dem Bioreaktor zum BioPAT® Trace über eine Dialysesonde wird der Analyt über eine Diffusionsmembran in einen durch die interne Pumpe bewegten Pufferstrom überführt und zur Messzelle transportiert. Die prinzipielle Funktion der Sonde zeigt Abbildung 14.

Die Dialysesonde ist für sämtliche Kultivierungsarten geeignet. Eine hohe Sterilsicherheit wird durch den Einsatz einer äußerst robusten Diffusionsmembran gewährleistet. Die verschiedenen Membranmaterialien ermöglichen Dialyse, cellulase stabile Dialyse und Gasdiffusion zur Abtrennung der Substrate. Der Einbau der Sonde in den Bioreaktor kann sowohl in den Deckel als auch in einen Seitenstutzen erfolgen.

Die Einsatzmöglichkeit der Dialysesonde hängt von den Reaktordimensionen und den Prozessbedingungen ab. Generell wird ein Einsatz der Dialysesonde für kleinere Bioreaktoren empfohlen, da hier ein Volumenverlust während der Probenahme inakzeptabel ist. Der Einsatz der Dialysesonde als Probenahmesystem gewährleistet eine volumenkonstante Analytik.

5.7 Funktion der Filtrationssonde



Abbildung 15: Filtrationssonde zur sterilen Probenentnahme aus Bioreaktoren

Eine Entnahme von zellfreien Substratproben aus Bioreaktoren erfolgt mit der Probenahmesonde auf Filtrationsbasis (Abbildung 15). Die hydrophilisierte Sonde wird im Innenraum des Bioreaktors fixiert und anschließend zusammen mit dem Medium sterilisiert. Das Membranmodul der Sonde wird in der turbulenten Zone des Reaktors, nahe des Rührers, positioniert. Als Sterilbarriere dient eine tubuläre Membran aus Polypropylen. Die Filtratleistung beträgt maximal 2 ml/min. Die zellfreie Probe kann nach der Entnahme direkt dem BioPAT® Trace zur Analyse zugeführt werden. Die Filtrationssonde wird eingesetzt, wenn ein ausreichendes Reaktorvolumen zur Verfügung steht.



Abbildung 16: AOD-Enzymreaktor

5.8 Funktion des Enzymreaktors

Der Enzymreaktor wird für die Messung von Methanol und Ethanol benötigt (Abbildung 16). In dem Reaktor befindet sich das immobilisierte Enzym Alkoholoxidase (AOD). Dort wird der jeweilige Alkohol umgesetzt und Wasserstoffperoxid gebildet. Das Wasserstoffperoxid wird anschließend in der Messzelle detektiert.



Aufgrund der Stabilität des verwendeten Enzyms darf die Umgebungstemperatur nicht höher als 25°C sein. Bei höheren Temperaturen ist der Einsatz eines Klimaschranks empfehlenswert.

5.9 Temperaturkorrektur

Das BioPAT® Trace ist mit einem Temperatursensor ausgestattet. Dieser ist in der Nähe der Messzelle angeordnet. Alle Messwerte werden mit einer temperaturabhängigen Funktion korrigiert.

6. Inbetriebnahme

6.1 Transport

Das BioPAT® Trace inklusive Zubehör wird in einer Schutzverpackung geliefert. Bitte bewahren Sie diese Verpackung auf, da nur in der Originalverpackung ein einwandfreier Versand gewährleistet ist.

Kontrollieren Sie nach Erhalt der Lieferung die Sendung auf Vollständigkeit und eventuelle Beschädigungen durch den Transport. Transportschäden sollten innerhalb einer Woche nach Lieferung mitgeteilt werden. Spätere Beanstandungen können nicht berücksichtigt werden.

6.2 Aufstellung

6.2.1 Aufstellung des Gerätes

Das BioPAT® Trace muss in der Nähe des zu überwachenden Bioreaktors (max. Entfernung 2 m) aufgestellt werden. Der Stellplatz muss erschütterungsfrei und geschützt vor korrosiver Atmosphäre und Verschmutzung durch Chemikalien sein. Des Weiteren sollte das BioPAT® Trace vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt werden.



Befolgen Sie die nachstehend aufgeführten Vorschriften zum Netzanschluss. Beim Betrieb des Gerätes mit falscher Netzspannung und/oder falscher Netzsicherung besteht Lebensgefahr.

Das zum Gerät mitgelieferte Steckernetzteil ist mit einem Netzstecker, einem Netzteil, sowie mit einem Gerätstecker versehen. Stecken Sie den Gerätstecker in die Anschlussbuchse auf der Rückseite des BioPAT® Trace ein und stellen Sie die Verbindung zu Ihrer Spannungsversorgung her. Das Gerät wird durch Ein- und Ausschalten des Netzschalters in oder außer Betrieb genommen. Beim Einschalten leuchtet auf der Frontseite eine grüne LED auf.

Verbinden Sie das BioPAT® Trace mit einem Ethernetkabel über den Ethernet-Anschluss auf der Rückseite mit dem lokalen Netzwerk. Die Steuerung des Gerätes erfolgt über einen PC mit Hilfe der mitgelieferten Bediensoftware. Dieser PC muss ebenfalls mit dem lokalen Netz oder direkt über das mitgelieferte Cross-over Ethernetkabel verbunden werden.

Überprüfen Sie nach dem Anschluss des Gerätes an den PC, ob die Systemzeiten beider Geräte synchronisiert sind. Verfahren Sie dazu wie in Kapitel ► „7.1.4.2 Grundeinstellung“ auf Seite 106 beschrieben.

6.2.2 Verschlauchung des Gerätes

Je nach gewählter Betriebsart ist das BioPAT® Trace mit dem dazugehörigen Schlauchset (Fluidik) zu bestücken.

Für jede Betriebsart finden Sie nachstehend eine entsprechende Anweisung zur Montage des Schlauchsets.

Das jeweilige Schlauchset besteht aus den für die Analyse notwendigen Komponenten: Pumpenkassetten, Ventilschläuche, Messkammer, Diffusionsmodul, Tropfenzähler und Anschlussleitungen für Puffer, Standards, Abfall sowie die Probenahmesonde (Filtration, Dialyse).

Die Leitungen zu Puffer, Standards, Probenahmesonde und Abfall sind vormontiert und in Folienbeutel verpackt. Es wird empfohlen, diese erst nach der Montage des Schlauchsets am Gerät zu öffnen, um die Handhabung zu erleichtern.



Abbildung 17: Ansicht eines Schlauchsets für die Betriebsart Filtration

Im Schlauchset Dialyse befindet sich zusätzlich eine Einmalspritze mit 3-Wege Hahn für die Analyse von externen Proben.

Entfernen Sie vor Beginn der Montage die beiden Leerkassetten auf den Pumpensteckplätzen. Die Leerkassetten können als Transportschutz der Motorachsen wiederverwendet werden.



Bei jeder Verschlauchung sind die konfektionierten original Schlauchsätze zu verwenden. Die Schlauchsegmente dürfen weder gequetscht noch geknickt werden, um einen einwandfreien Fluß der Lösungen zu gewährleisten.



Es ist darauf zu achten, dass die Ventilschläuche Ventilschläuche fest im Quetschventil sitzen, damit ein einwandfreies Schließen und Öffnen der Schläuche gewährleistet ist.

Die zu- und abführenden Leitungen der Schlauchsets sind in Folienbeuteln verpackt und beschriftet. Die einzelnen Schläuche sind mit folgenden Markierungen versehen:

- BUFFER Anschluss an Transportpuffer
- WASTE Anschluss an Abfall
- ← Sondenanschluss 1 Dialyse
- → Sondenanschluss 2 Dialyse
- Sample Sondenanschluss Filtration
- Standard1 Deckelbeschriftung für Standard-Kalibrierlösung 1
- Standard2 Deckelbeschriftung für Standard-Kalibrierlösung 2



Stellen Sie vor Beginn des Befüllens des Schlauchsets sicher, dass alle Lösungen angeschlossen sind und die Gefäße noch ausreichend gefüllt sind. Nicht oder nur teilweise gefüllte Schlauchsets führen zu fehlerhaften Messwerten!



Die Transportlösung wird als Konzentrat geliefert. Beachten Sie den Hinweis zur fachgerechten Verdünnung auf der Verpackung. Falsche oder keine Verdünnung führt zu fehlerhaften Messwerten!



Abbildung 18: Ansicht einer fertig bestückten Frontseite für die Betriebsart Filtration

6.2.3 Montage des Schlauchsets Filtration

Zur Montage des Schlauchsets müssen zunächst die Ventilschläuche in die Quetschventile eingelegt werden. Um Verwechslungen zu vermeiden, sind die jeweiligen Leitungen farbig markiert. Dabei gelten folgende Regeln:

- Die Schlauchpaare sind farbig markiert (rot, gelb und grün) und werden von zwei Führungsplatten gehalten
- Die Reihenfolge von oben nach unten folgt dem Prinzip der Ampel: rot-oben, gelb-mitte, grün-unten
- Die farbig markierte Leitung des Schlauchpaares kommt immer in den vorderen Ventilschlitz
- Beim Einlegen ist die Seite mit der Markierung immer mit der rechten Hand zu führen

Überprüfen Sie nach dem Einlegen des Schlauchsets ob das Ergebnis mit dieser Darstellung übereinstimmt.



Abbildung 19: Spannen und Ausrichten der Schlauchpaare in der Führungsplatte

Nehmen Sie im ersten Schritt die beiden Führungsplatten in beide Hände und öffnen sie leicht, um die Ventilschläuche parallel auszurichten (siehe Abbildung 19).

Das rot markierte Schlauchpaar sollte dabei oben und die Markierung rechts sichtbar sein.



Abbildung 20: Positionierung der Ventilschläuche am Gerät

Legen sie nun die Führungsplatten so über die Ventile, dass die Schlauchpaare jeweils über den Ventilschlitz liegen (siehe Abbildung 20).

Achten Sie beim Einlegen der Schläuche darauf, dass sich die Farbmarkierung (rot, gelb, grün) immer rechts neben dem Ventil befindet und mit der Farbmarkierung des Ventils übereinstimmt.

Halten Sie beim Einlegen die beiden Seiten des jeweiligen Schlauchpaares straff gespannt und bewegen Sie es nach unten, bis beide Schläuche fest in den Schlitz sitzen (siehe Abbildung 21, 22). Drücken Sie dabei abwechselnd auf die schwarzen Tasten des Ventils, um auch die hinteren Schläuche tief in den Ventilschlitz einführen zu können. Der korrekte Sitz der Schläuche im Ventil ist anschließend zu überprüfen, um Fehler bei der Messung zu vermeiden.

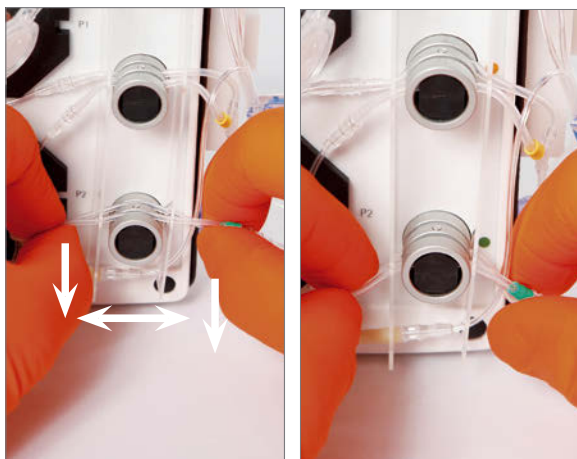


Abbildung 21, 22: Spannen und Einlegen des Schlauchpaares



Abbildung 23: Sichern der Ventilschläuche durch Zusammenschieben der Führungsplatten

Nachdem Sie alle drei Ventile bestückt haben, schieben Sie anschließend die beiden Führungsplatten in Richtung Ventil, um die Position der Schläuche im Ventilschlitz zu fixieren (Abbildung 23).

Im nächsten Schritt werden die beiden Pumpenkassetten auf die Motorwelle aufgesteckt und fest an die Halteplatte gepresst, bis ein Klicken durch das Einrasten zu hören ist.



Vor dem Aufstecken der Pumpenkassetten ist zu prüfen, ob die Motorwelle sauber ist (gegebenenfalls mit einem weichen Tuch ab Wischen). Schmutzpartikel oder Abrieb von vorherigen Anwendungen kann die einwandfreie Funktion der Pumpe beeinträchtigen oder sogar vollständig verhindern.

Es werden nacheinander die untere Pumpe (P2) und die obere Pumpe (P1) aufgesteckt (Abbildung 24, 25).



Abbildung 24, 25: Aufstecken der unteren Pumpenkassette P2 und der oberen Pumpenkassette P1



Abbildung 26: Korrekter Sitz der Pumpenkassette
(eingerasteter Befestigungszapfen)

Der korrekte Sitz der Pumpenkassetten wird überprüft
(Abbildung 26).



Abbildung 27: Komplett
montierte Seitenplatte

Nachdem die Front des Gerätes mit den Pumpen und Ventilen bestückt wurde, wird die Seitenplatte des Gerätes mit Sensor, Tropfkammern und Diffusionsmodul versehen.

Eine fertig montierte Seitenplatte ist in Abbildung 27
gezeigt.

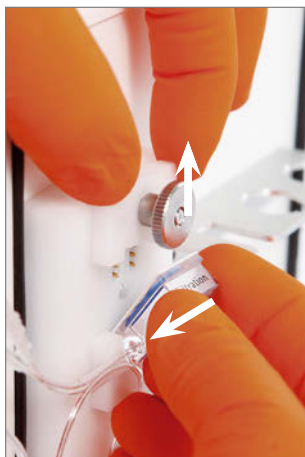


Abbildung 28: Einsetzen der Messzelle am Gerät

Zuerst wird die Messzelle in die Aufnahme des Messverstärkers eingesetzt (Abbildung 28).

Lösen Sie dazu die Rändelmutter an der oberen Halteplatte, so dass diese nach oben verschoben werden kann.

Setzen Sie dann die Unterkante der Messzelle in die Vertiefung am unteren Rand der Aufnahme ein (Abbildung 28).

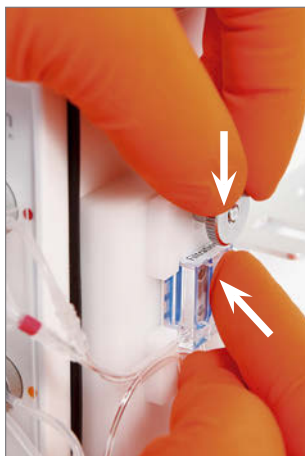


Abbildung 29: Fixieren der Messzelle am Gerät

Klappen Sie die Messzelle nach oben an den Kontaktstecker. Ziehen Sie dabei die obere Halteplatte etwas nach oben.

Drücken Sie die Messzelle an die Aufnahme, schieben Sie die Halteplatte nach unten (Abbildung 29).

Durch Festziehen der Rändelmutter wird die Messzelle am Gerät fixiert.



Abbildung 30: Fixieren des Diffusionsmoduls an der Befestigungsschiene

Anschließend werden die restlichen Elemente am Gerät befestigt. Fixieren Sie das Diffusionsmodul über die seitlichen Halteschlitzte an der Befestigungsschiene (Abbildung 30). Achten Sie dabei auf die korrekte Ausrichtung des Diffusionsmoduls mit dem Pfeil nach oben zeigend.



Abbildung 31: Einstecken der Tropfenzähler in die Halterung

Danach stecken Sie die beiden Tropfenzähler in die dafür vorgesehenen Halterungen (Abbildung 31).

6.2.4. Montage des Schlauchsets für die Betriebsart Dialyse

Das Einlegen des Schlauchsets Dialyse erfolgt wie bei dem Schlauchset Filtration.

Zusatzinformation:

Im Schlauchset Dialyse befindet sich zusätzlich eine Einmalspritze mit 3-Wege Hahn für die Analyse von externen Proben. Falls Sie diese Option nutzen wollen, müssen Sie den 3-Wege Hahn zwischen dem Anschluss mit der grünen Markierung und die Leitung zum Kalibrierstandard 1 anbringen (siehe Abbildung 32 und 33).



Abbildung 32: Montageort für 3-Wege Hahn



Abbildung 33: 3-Wege Hahn und Spritze montiert

6.2.5 Anschluss und Ausbau des Enzymreaktors

In der Betriebsart Methanol/Ethanol wird für die enzymatische Umsetzung der Analyten ein Enzymreaktor mit immobilisierter Alkoholoxidase benötigt. Da das Enzym relativ temperaturempfindlich ist und nicht trocken gelagert werden kann, wird der Reaktor getrennt vom Schlauchset geliefert. Der Enzymreaktor muss in das dafür vorgesehene Schlauchset eingebaut werden. Aufgrund der Lagerbedingungen bei 4-8°C sollte dieses erst direkt vor der Inbetriebnahme erfolgen.

Vor dem Einbau des Reaktors muss das Schlauchset in das BioPAT® Trace eingelegt und mit Puffer gefüllt sein. Eine trockene Inbetriebnahme führt zu einer Kapazitätsabnahme des Reaktors und sollte deshalb unbedingt vermieden werden. Starten Sie zum Füllen des Schlauchsets zunächst den Befüllvorgang (siehe Kapitel 7, Abbildung 64). Durch Aktivieren der Statusanzeige (siehe Kapitel 7.1.3) lässt sich der Fortgang der Befüllung in der Anzeige verfolgen. Vor oder während der Vormessungen muss das Gerät angehalten werden, um den Reaktor einbauen zu können. Halten Sie das Gerät mit „Anhalten“ (siehe Kapitel 7.1.2.3) an.



Sollte Luft in den Enzymreaktor eindringen, besteht die Gefahr einer Kapazitätsabnahme des Enzymreaktors, verbunden mit einer geringeren Empfindlichkeit.

Zum Einbau wird der Enzymreaktor aus dem Transportbehälter genommen und die roten Verschlusskappen geöffnet. Anschließend wird er in die davor vorgesehene Stelle in das Schlauchset eingebaut (siehe Abbildungen 34–36).

Nach dem Einbau des Enzymreaktors starten Sie das Gerät erneut mit „Inbetriebnahme“ (siehe Kapitel 7.1.2.2). Wählen Sie „neuer Schlauchsatz“ und starten Sie einen erneuten Befüllvorgang mit dem eingebauten Enzymreaktor.



Abbildung 34: Einbaustelle für den Enzymreaktor



Abbildung 35: Befestigen des Enzymreaktors



Abbildung 36: Fertig eingebauter Enzymreaktor

Der Ausbau des Reaktors erfolgt ebenfalls in einem angehaltenen Status (Gerät – Anhalten). Der Reaktor wird mit den roten Verschlusskappen verschlossen und in den Transportbehälter gestellt und kühl bei 4–8°C gelagert.



Der Enzymreaktor ist zur Weiternutzung aus dem Schlauchset auszubauen und mit Transportpuffer gefüllt im Kühlschrank bei 4–8 °C zu lagern. Sollte Luft in den Enzymreaktor eindringen, besteht die Gefahr einer Kapazitätsabnahme des Enzymreaktors, verbunden mit einer geringeren Empfindlichkeit.

6.2.6 Anschluss der Dialysesonde

6.2.6.1 Montage der Dialysemembran in der Dialysesonde

Vor jeder Online-Messung bei Bioprozessen mit Sterilanforderung muss eine neue Dialysemembran, wie in der nachstehenden Abbildung 37 dargestellt, eingebaut werden. Bei Nichtbeachtung kann eine Unsterilität den gesamten Kultivierungsprozess gefährden.

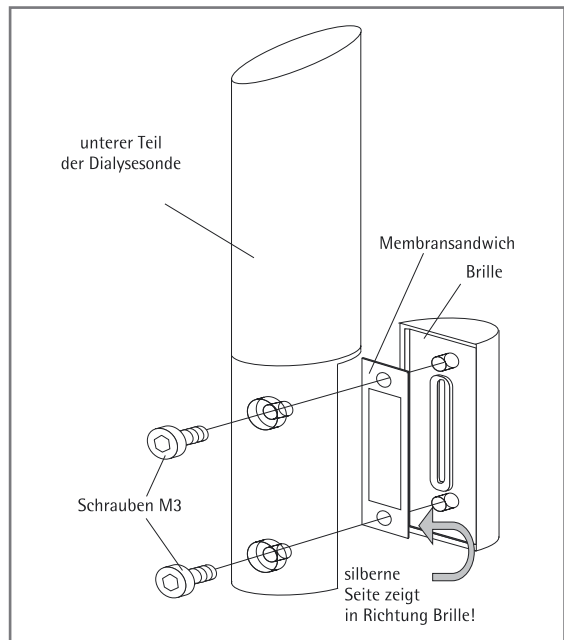


Abbildung 37: Wechsel der Membran in der Dialysesonde für die Applikation Glukose | Laktat

Die neue Dialysemembran muss korrekt platziert werden und die Sondenbrille muss mit den zwei Schrauben fest angezogen werden, siehe Abbildungen 38 bis 40.



Abbildung 38: Einlegen der Membran



Abbildung 39: Einbau der Sondenbrille



Abbildung 40: Anziehen der 2 Schrauben



Es ist besonders auf die korrekte Platzierung der Membran in der Dialysesonde zu achten.

Die weiße Membranseite ist in Richtung der Dialysesonde einzulegen (pufferberührend). Die silberne Membranseite zeigt in Richtung Sondenbrille (medienberührend).

Schräges Einlegen der Membran kann Undichtigkeiten am Dialysesondenkopf zur Folge haben und die Sterilität des gesamten Kultivierungsprozesses gefährden.

6.2.6.2 Installation der Dialysesonde im Bioreaktor

Vor dem Einbau in den Fermenter die Gleitscheibe und den O-Ring einlegen (Abbildung 41).



Abbildung 41: Einlegen der Gleitscheibe und O-Ring

6.2.6.3 Sterilisation der Dialysesonde vor dem Anschluss an das BioPAT® Trace

Vor dem Anschluss der Dialysesonde an das BioPAT® Trace muss die Sonde zusammen mit dem Bioreaktor sterilisiert werden. Verbinden Sie die Dialysesonde mit dem Schlauchset, wie in Abbildung 42 dargestellt. Die Zu- und Abläufe der Sonde sind durch Pfeile an den Seiten gekennzeichnet. Die Markierungen am Schlauchset zeigen in dieselbe Richtung.



Abbildung 42: Füllen der Sonde mit Pufferlösung



Abbildung 43: Verschließen der Sonde vor dem Sterilisieren

- a) Vor dem Sterilisieren die Dialysesonde mit Pufferlösung mit Hilfe der Einmalspritze und dem Luer-UNF-Adapter füllen (Abbildung 42). Dabei kann gleichzeitig die Dichtigkeit der Sonde geprüft werden.
- b) Zum Sterilisieren die Sonde durch Verbinden der Luer-Anschlüsse verschließen (Abbildung 43). Dadurch wird verhindert, dass an der Membran in der Dialysesonde ein einseitiger Überdruck entsteht, der die Membran schädigen könnte.
- c) Sterilisieren Sie nun den Reaktor.
- d) Nach der Sterilisation: Nach der Abkühlphase öffnen Sie die Luer-Verbinder wieder.
- e) Erneut mit Hilfe der Einmalspritze die Sonde mit Pufferlösung füllen und vorsichtig auf freien Fluss prüfen (siehe Abbildung 42).
- f) Jetzt kann die Dialysesonde an das entsprechende Schlauchset des online Analysegerätes angeschlossen werden.

6.2.6.4 Anbindung der Dialysesonde an das Schlauchset

Die Dialysesonde wird mit dem Dialyse-Schlauchset der online Analysegeräte verbunden. Die Zu- und Abläufe der Sonde sind durch Pfeile an den Seiten gekennzeichnet. Die Markierungen am Schlauchset zeigen in dieselbe Richtung, siehe nachstehende Abbildungen 44 und 45.



Abbildung 44, 45: Anbindung der Dialysesonde an das Schlauchset



Bei Inbetriebnahme der Sonde nach der Sterilisation sind eventuell auftretende Luftblasen in der Messkammer am online Analysegerät zu entfernen.

6.2.6.5 Reinigung der Dialysesonde und Wechsel der Membran

- a) Vor dem Ausbau der Dialysesonde aus dem Bioreaktor wird das Schlauchset von der Sonde entfernt in dem die Schlauchenden gelöst werden.
- b) Nach der Ernte des Bioreaktors und einer eventuellen Totautoklavierphase wird die Dialysesonde aus dem Reaktor ausgebaut. Die anschließende Reinigung der Sonde und des Adapters erfolgt mit einer weichen Bürste und Wasser.
- c) Die Dichtungsringe des Dialysesondenadapters müssen auf Sauberkeit und korrekten Sitz überprüft werden.
- d) Die zwei Torxschrauben am Dialysesondenende werden mit dem mitgelieferten Torxschlüssel gelöst, so dass die Dialysesondenbrille mit der Dialysemembran von der Brillenhalterung entfernt werden kann.
- e) Die Sondenbrille und die Brillenhalterung werden anschließend mit einer weichen Bürste und Wasser gereinigt.

6.2.7 Anschluss der Filtrationssonde

Die Filtrationssonde (In-line Probenahmesonde) dient zur Gewinnung keimfreien Filtrates aus Bioreaktoren und Fermentern unter sterilen Bedingungen. Eine schlauchförmige Mikrofiltrationsmembran aus Polypropylen, die mit Hilfe einer Inline-Sonde im Inneren des Bioreaktors positioniert wird, dient als Sterilbarriere. Die Sterilisation der Filtrationssonde erfolgt zusammen mit dem Bioreaktor.

Der Einbau der Probenahmesonde erfolgt in Reaktor-Stutzen gemäß METTLER-TOLEDO® (INGOLD)-Standard (12 und 19 mm Deckelport sowie 25 mm Seitenport). Das keimfreie Filtrat wird am Sondenkopf, der außerhalb des Bioreaktors | Fermenters zugänglich ist, kontinuierlich oder diskontinuierlich entnommen. Zur Filtratförderung wird die Sonde an das Filtrations-Schlauchset angeschlossen.

Die nachstehende Abbildung 46 zeigt die Filtrationssonde zum Einbau in den 12 mm Deckelport sowie mit Absperrhahn zum Einbau in den 25 mm Seitenport.



Abbildung 46: Filtrationssonden in 12 mm und 25 mm Bauweise



Beachten Sie bei der Montage und Bedienung der Filtrationssonde unbedingt die mitgelieferte Anleitung.

Es ist unerlässlich die beschriebenen Vorgänge zur Hydrophilisierung der Polypropylenmembran, zum Einbau in den Bioreaktor, Dichtigkeitsprüfung, In-line Sterilisation und Reinigung der Filtrationssonde einzuhalten.

6.2.7.1 Beschreibung des Aufbaus

Die Filtrationssonde zum Einbau in einen 12 mm Deckelport besteht aus der Filtrationseinheit (1) mit Membranträger (2), Überwurfmutter (3), Ferrule (4), O-Ring (5), Polypropylen Membran (6), Montagekit (Klemmverschraubung mit Gleitscheibe und O-Ring) (7) und Blindstopfen (8).



Abbildung 47: Bestandteile der Filtrationssonde zum Einbau in den 12 mm Deckelport mit PG 13.5 Anschluss

Die Fixierung der Polypropylen Membran (6) erfolgt auf dem Membranträger (2), einem gewendelten Rohr aus Edelstahl. Das durch die Membran gewonnene Permeat wird über einen wendelförmigen Kanal zu insgesamt 4 Kreuzbohrungen geführt. Diese leiten das Filtrat auf kürzestem Wege in die Sammelbohrung der Filtrationseinheit wodurch eine Rückvermischung der Probe weitgehend vermieden wird.

Die Ferrule (4) aus PTFE umschließt das Ende der Membran und den freiliegenden Teil des Membranträgers. Durch Anziehen der Überwurfmutter (3) wird die Ferrule unter Druck verformt und dichtet das Membran-Ende zum Membranträger hin sicher ab.

Das Gewinde der Sonde wird durch den O-Ring (5) und durch Festziehen gegen Endanschlag vor dem Eindringen von Mikroorganismen geschützt.

Die Eintauchtiefe der Filtrationssonde ist durch die Installation mit der Klemmverschraubung des Montagekits (7) von 160 bis 330 mm variabel.

Der Blindstopfen (8) dient dem Verschluss der Filtrationssonde während der Sterilisation.

6.2.7.2 Optionales Zubehör

Zum Einbau der Filtrationssonde in den 19 mm Deckelport stehen zwei Reduzieradapter 19/12 mm (M26×1 mit Feingewinde und RD 28×1/8" mit Grobgewinde) zur Verfügung.



Abbildung 48: Filtrationssonde mit Adapter M26×1



Abbildung 49: Filtrationssonde mit Adapter RD 28×1/8"

6.2.7.3 Montage der Filtrationssonde

Schieben Sie die Ferrule mit der engen Öffnung voran über den Membranträger bis in die konische untere Membranhalterung der Filtrationseinheit (Abbildung 50).

Die Polypropylen Membran wird aus der Verpackung genommen und vorsichtig auf den Membranträger bis zum Anschlag in die bereits montierte PTFE Ferrule gesteckt.



Abbildung 50: Einlegen der Ferrule



Abbildung 51: Aufstecken der Polypropylen Membran

Schieben Sie den O-Ring über das Außengewinde der Filtrationseinheit. Nun wird die Überwurfmutter vorsichtig über die aufgesteckte Membran geschoben und in die Filtrationseinheit geschraubt. Die Verschraubung wird unter Verwendung von 2 Maulschlüsseln bis zum mechanischen Anschlag angezogen.



Abbildung 52: Einlegen des O-Rings



Abbildung 53: Anziehen der Überwurfmutter



Befeuchten Sie das Außengewinde der Filtrationssonde vor der Montage mit demineralisiertem Wasser.

Die Schraubverbindung der Filtrationssonde wird bis zum mechanischen Anschlag angezogen.

6.2.7.4 Hydrophilisierung der Polypropylenmembran

Neue Polypropylen Membrane sind undurchlässig für wässrige Medien (hydrophob).

Nach dem Einbau in die Filtrationssonde muss die Membran daher hydrophilisiert werden. Als Hydrophilisier-Lösung findet Isopropanol (70%ig, vol/vol) Verwendung.

In einem Standzylinder ausreichender Länge wird die Sonde so in die Hydrophilisier-Lösung getaucht, dass sich die Membrane vollständig in der Flüssigkeit befindet. Mit Hilfe einer Schlauchpumpe, welche am Probenauslass der Sonde angeschlossen ist, wird der Alkohol mit einer Fließrate von 1–2 ml/min im Kreislauf durch die Sonde gepumpt. Die Dauer der Hydrophilisierung beträgt mindestens 2 Stunden. Ohne Pumpeneinsatz kann die Sonde auch über Nacht durch Aufbewahrung in 70% -igem (vol/vol) Isopropanol hydrophilisiert werden.

6.2.7.5 Dichtigkeitsprüfung

Nach erfolgter Hydrophilisierung wird eine Dichtigkeitsprüfung durchgeführt. Dazu wird der Hydrophilisierungsaufbau aus Punkt 6.2.7.6.2 verwendet.

Statt Isopropanol durch die Membran der Sonde zu ziehen, wird nun Luft in die Sonde gepumpt. Die Fließrate sollte die gleiche wie bei der vorherigen Hydrophilisierung sein.

- Viele kleine Luftblasen sollten zeitlich verzögert aus der Membran austreten, ansonsten ist die Membran unzureichend hydrophilisiert.
- Der Austritt von großen Luftblasen aus den Verschraubungen deutet auf defekte Dichtungen hin.

Um die Membran bis zum Einbau in den Bioreaktor hydrophil zu halten, wird die Aufbewahrung unter Hydrophilisier-Lösung (70%igem Isopropanol) empfohlen. Kurz vor dem Einbau in den Bioreaktor sollte das Isopropanol durch Wasser ersetzt werden um Verdunstung und den Verlust der Hydrophilisierung zu vermeiden.

6.2.7.6 Verwendung des Hydrophilisierungs-Sets
Das Hydrophilisierungs-Set ist ein Hilfsmittel zur Inbetriebnahme der Filtrationssonde. Es kann optional bestellt werden.

Die Polypropylen-Membran, die für die Filtrationssonde eingesetzt wird, ist für wässrige Medien undurchlässig (hydrophob). Aus diesem Grund muss die Membran vor jedem Einsatz mit 70%iger Isopropanol-Lösung hydrophilisiert werden. Diese Hydrophilisierung kann mit dem Hydrophilisierungs-Set und dem BioPAT® Trace einfach durchgeführt werden.



Abbildung 54: Hydrophilisierungs-Set mit Pumpenkassette und Schlauchleitungen

6.2.7.6.1 Beschreibung des Aufbaus

Das Hydrophilisierungs-Set besteht aus einer Pumpenkassette von der zwei PTFE-Schläuche wegführen. An einem Schlauchende befindet sich ein UNF-Fitting mit Ferrule (zum Anschluss an die Sonde) und das andere Schlauchende ist ohne Fitting (siehe Abbildung 54).

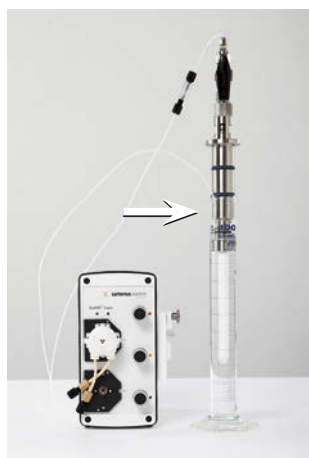


Abbildung 55: Hydrophilisierungs-Set Aufbau und Anschluss

6.2.7.6.2 Durchführung der Hydrophilisierung

Nach dem Einbau in die Filtrationssonde muss die Polypropylen-Membran mit Isopropanol (70%ig, vol/vol) hydrophilisiert werden.

In einem Standzylinder ausreichender Länge wird die Sonde so in die 70%ige Isopropanol-Lösung getaucht, dass sich die Membran vollständig in der Flüssigkeit befindet.

Das Schlauchende mit UNF-Fitting wird an die Filtrationssonde angeschlossen. Das freie Schlauchende wird in dem Standzylinder so fixiert, dass es frei in der Luft oberhalb des Flüssigkeitsstandes hängt (siehe Markierung in Abbildung 55).

Die Pumpenkassette des Hydrophilisierungs-Set wird auf eine Motorwelle des BioPAT® Trace gesteckt. Die zweite Motorwelle bleibt frei.

Nach Starten des Programms „TraceMon“ im Filtrationsmodus erscheint die in Abbildung 56 gezeigte Startseite. Auf der rechten Seite der Bedienoberfläche befindet sich das Bedienfeld mit den Steuerknöpfen für das Starten (Pumpe ein) und das Stoppen (Pumpe aus) der Pumpe, sowie der Steuerknopf für die Dichtigkeitsprüfung.

Durch Drücken von „Pumpe ein“ wird der Hydrophilisierungsvorgang gestartet. Die Isopropanol-Lösung wird durch die Filtrationssonde gesaugt und wieder zurück in den Standzylinder gepumpt. Die Dauer der Hydrophilisierung sollte mindestens 2 Stunden betragen, um im Betrieb ausreichend gute Filtrationsleistungen zu erzielen. Zum Abschluss der Hydrophilisierung wird die Pumpe durch betätigen der Taste „Pumpe aus“ gestoppt.

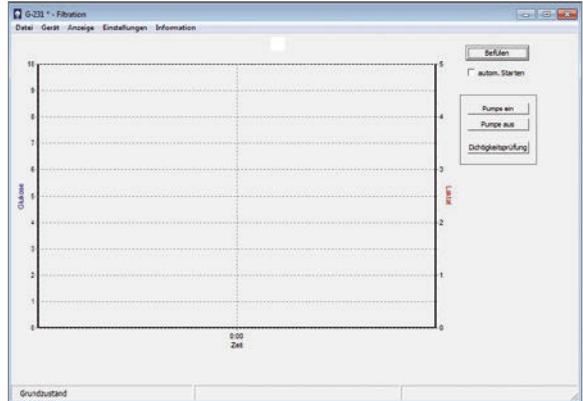


Abbildung 56: Startseite Filtration mit Bedienfeld für die Ansteuerung der Pumpe zur Hydrophilisierung

6.2.7.6.3 Durchführung der Dichtigkeitsprüfung
Nach erfolgter Hydrophilisierung muss mit Hilfe des Bedienfeldes (siehe Abbildung 56) eine Dichtigkeitsprüfung durchgeführt werden. Dazu wird der Steuerknopf „Dichtigkeitsprüfung“ aktiviert.

Für die Dichtigkeitsprüfung wird der Hydrophilisierungsaufbau aus Abbildung 55 verwendet. Das freie Schlauchende des Hydrophilisierungs-Sets muss frei in der Luft oberhalb des Flüssigkeitsstandes im Standzylinder hängen (siehe Markierung in Abbildung 55).

Der Testvorgang dauert 8 Minuten. Während dieser Zeit wird Luft in die Sonde gepumpt. Anschließend zieht die Pumpe automatisch wieder Isopropanol durch die Membran, um sicherzustellen, dass die Membran nicht wieder hydrophob wird.

Während des Testvorgangs sollte folgendes zu beobachten sein:

- Viele kleine Luftblasen sollten zeitlich verzögert nach etwa 6 Minuten aus der Membran austreten, ansonsten ist die Membran unzureichend hydrophilisiert.
- Falls der Austritt von großen Luftblasen aus den Verschraubungen beobachtet wird, deutet dieses auf defekte Dichtungen hin.

Um die Membran bis zum Einbau in den Bioreaktor hydrophil zu halten, wird die Aufbewahrung in 70%iger Isopropanol-Lösung empfohlen.

Kurz vor dem Einbau in den Bioreaktor muss das Isopropanol durch Wasser ersetzt werden um Verdunstung und den Verlust der Hydrophilisierung zu vermeiden. Tauschen Sie dazu die Lösung im Standzylinder (siehe Abbildung 55) gegen Wasser aus und starten sie am Bedienfeld (siehe

Abbildung 56) die Pumpe durch betätigen der Taste „Pumpe ein“. Nach ca. 10 Minuten stoppen Sie den Vorgang durch Drücken der Taste „Pumpe aus“. Entfernen Sie das Hydrophilisierungs-Set von der Filtrationssonde und bauen diese gemäß Bedienungsanleitung in den Bioreaktor ein.



Beachten Sie unbedingt die Anweisungen in der Bedienungsanleitung zur Filtrationssonde. Durch unsachgemäße Montage, Vorbehandlung oder Reinigung der Membran können Messfehler oder Kontaminationen des Bioreaktors entstehen!

6.2.7.6.4 Durchführung der Regenerierung der Filtrationssonde nach der Fermentation
Direkt nach der Entleerung und Sterilisation des Bioreaktors ist die Filtrationssonde aus dem Reaktorport auszubauen. Wir empfehlen nach jedem Einsatz den Austausch von Membran und PTFE Ferrule.

In vielen Fällen ist jedoch ein wiederholter Einsatz der Membran (3–5 Einsätze) nach vorheriger Reinigung möglich. In diesem Fall verfahren Sie wie folgt:

Entfernen Sie z.B. unter Verwendung einer weichen Bürste, unter fließendem Wasser, alle an der Filtrationssonde haftenden Beläge.

Nachfolgend wird zur Entfernung der Protein-Kontamination der Membran eine schwache Base (z. B. 0,5 N NaOH) im Kreislauf in Filtratriichtung durch die Filtrationssonde gepumpt; die Dauer des Reinigungszyklus beträgt etwa 4 Stunden. Sie können hierzu dieselbe Vorrichtung wie zur Hydrophilisierung verwenden.

Nach Beendigung des Reinigungsvorganges füllen Sie den Standzylinder mit demineralisiertem Wasser und spülen die Filtrationssonde mit dem angeschlossenen Hydrophilisierungs-Set sorgfältig, so dass die Reste der basischen Lösung entfernt werden.

Um die Hydrophilisierung der Membran zu erhalten, muss die Sonde bis zum nächsten Einsatz unter Hydrophilisierungs-Lösung (70%igem Isopropanol) aufbewahrt werden.

Sollte die Filtrateleistung der Filtrationssonde trotz intensiver Spülung mit einer basischen Lösung unzureichend sein, muss eine neue Membran einschließlich der erforderlichen PTFE-Ferrule eingebaut werden.

6.2.7.7 Einbau im Bioreaktor

Vor jedem Einbau der Filtrationssonde in den Entnahmestutzen des Bioreaktors sind alle Verschraubungen auf festen Sitz zu prüfen und ggf. nachzuziehen. Ebenso ist der O-Ring an der Filtrationssonde auf Beschädigung zu prüfen und ggf. zu ersetzen.

Wählen Sie am Reaktor einen Stutzen aus, der die Positionierung der Sonde in einem Bereich möglichst großer Turbulenz ermöglicht. Eine möglichst hohe Strömungsgeschwindigkeit im Bereich der Filteroberfläche bewirkt eine Verlängerung der Standzeit der Filtrationssonde (Crossflow-Effekt).

Achten Sie unbedingt darauf, dass die Sonde nach dem Einbau nicht mit bewegten Teilen (z.B. Rührer, Rührerwelle) im Inneren des Bioreaktors in Berührung kommt.

Die Polypropylen Membran muss im Betrieb des Bioreaktors immer vollständig in die Flüssigkeit eintauchen. Andernfalls ist eine starke Abnahme der Filtratleistung möglich.

Ein hoher hydrostatischer Druck an der Entnahmestelle kann die Leistung der Filtrationseinheit verbessern.

Die Filtrationssonde ist immer erst kurz vor dem Befüllen des Bioreaktors einzubauen, da ein Austrocknen der Membran zu einem Verlust der hydrophilen Eigenschaften führt.

6.2.7.8 In-line Sterilisation der Filtrationssonde

Nach dem Einbau wird die Filtrationssonde mit einem Blindstopfen verschlossen und zusammen mit dem Bioreaktor sterilisiert. Während des gesamten Vorganges muss die Sonde vollständig mit Flüssigkeit bedeckt sein.

Nach Abschluss der Sterilisation und Erreichen der Betriebstemperatur des Reaktors von max. 40 °C muss der Filtratauslass geöffnet werden und die Filtrationssonde wird mit dem BioPAT® Trace über ein Schlauchset zur Probenentnahme verbunden.

6.2.7.9 Anbindung der Filtrationssonde an das Schlauchset

Die Filtrationssonde wird mit dem Filtrations-
schlauchset der online Analysegeräte verbunden.

Zum Anschluss der Filtrationssonde an das Schlauch-
set des online Analysegerätes BioPAT® Trace befindet
sich im Zubehör eine Adapterleitung (Luer-UNF).
Diese ist, wie in den folgenden Abbildungen 57 und
58 dargestellt, zwischen die Sonde (UNF-Anschluss)
und das BioPAT® Trace-Schlauchset (Luer-Anschluss)
zu montieren.



Abbildung 57: Filtrationssonde
mit Schlauchset



Abbildung 58: Anbindung
des Schlauchsets

6.3 Laden der Software und Netzwerkanschluss

Das BioPAT® Trace wird intern von einem Computer gesteuert und kann als vollwertiger Teilnehmer in Firmennetzen, lokalen Netzen oder in direkter Verbindung mit einem PC betrieben werden.

Dazu muss die mitgelieferte Software auf dem für die Bedienung vorgesehenen PC installiert werden.

Die zur Installation der Bediensoftware trace_mon notwendigen Dateien sind auf dem Datenspeicher des Gerätes abgelegt und sind über eine geräteinterne Webseite erreichbar.

Zur Installation gehen sie wie folgt vor:

Schließen Sie das BioPAT® Trace an Ihr Netzwerk an und rufen Sie in Ihrem Webbrowser die werkseitige IP-Adresse 192.168.120.231 auf.

Hier haben Sie die Möglichkeit, wichtige Dateien und die Bedienungsanleitung auf Ihren Rechner herunter zu laden sowie dem Gerät eine für Ihr eigenes Netzwerk passende IP-Adresse zu vergeben. Falls Sie keine Änderung vornehmen möchten, z.B. bei direkter Verbindung mit einem PC über ein Cross-over Ethernet-Kabel, wird das Gerät mit der werkseitigen IP-Adresse arbeiten. Achten Sie bei der Verwendung einer direkten Verbindung darauf, dass ihr Rechner nicht auf automatische IP-Adressvergabe eingestellt ist!

Im ersten Schritt laden Sie die für die weitere Installation wichtigen Dateien auf Ihren Rechner herunter (rechter Mausklick). Diese finden Sie im Menüpunkt „Download“. Sie finden dort folgende Dateien:

- setup_tracemon_x_x_x als Setup Datei der Bediensoftware (_x_x_x = Versionsangabe)
- ip_set als Sicherheitskopie der Boot Datei
- Bedienungsanleitung des BioPAT® Trace als pdf-Datei

Ändern Sie im zweiten Schritt die Netzwerkadresse des Gerätes. Diese finden Sie im Menüpunkt „Netzwerkeinstellungen“.



Abbildung 59: Login für Netzwerkeinstellungen

Dazu müssen Sie sich mit dem Kennwort **TuSh1Vf5Ja** einloggen.



Die werkseitige IP-Adresse wird in den meisten Fällen nicht mit Firmennetzwerken kompatibel sein. Lassen Sie sich von Ihrem Netzwerkadministrator eine geeignete IP-Adresse zuteilen, ansonsten könnte sich das Gerät nicht mit der Bediensoftware verbinden lassen.

Netzwerkeinstellungen

INTERFACE

address	192.168.120.231	?
netmask	255.255.255.0	?
gateway	192.168.120.1	?

RESOLV.CONF

search	trace-bs.local	?
nameserver	192.168.120.10	?

Abbildung 60: Eingabefeld zur Netzwerkeinstellung

Falls Sie über ein lokales oder Firmennetzwerk arbeiten möchten, kann es sein, dass die voreingestellte Netzwerkadresse oder die Netzbezeichnung nicht mit Ihrem Netz kompatibel ist. Wenden Sie sich in diesen Fällen an Ihren Netzwerkadministrator und ändern Sie die IP Adresse des BioPAT® Trace in diesem Formularfeld.

Nach dem Ändern der Netzwerkadresse ist das BioPAT® Trace nur über diese neue IP-Adresse erreichbar. Die letzten 3 Ziffern der IP-Adresse (hier 231) stellen die Gerätenummer dar, die in der Bedienoberfläche angezeigt wird.

6.3.1 Problembehebung

Falls Sie auf der Webseite des Gerätes und während der Installation verschiedene oder versehentlich falsche IP-Adressen angegeben haben, kann keine Verbindung aufgebaut werden. Sie können dann wie folgt vorgehen:

Versuchen Sie zunächst mittels einer direkten Verbindung mit einem PC und einem Cross-over Ethernet-Kabel eine Verbindung über die Standard IP-Adresse 192.168.120.231 zur geräteinternen Webseite herzustellen.

Ist dieses nicht möglich, muss mittels der Boot Datei eine Änderung auf eine bekannte IP-Adresse erzwungen werden. Schalten Sie zunächst das Gerät aus. Kopieren Sie dann die Boot Datei „ip_set“ auf einen USB Stick und schließen Sie diesen auf der Geräterückseite an. Schalten Sie anschließend das Gerät an. Nach dem Bootvorgang hat es nun die neue IP-Adresse 192.168.120.232.

Rufen Sie nun in Ihrem Webbrowser die neue IP-Adresse 192.168.120.232 auf. Nachdem Sie die Verbindung zum Gerät auf diese Weise hergestellt haben, können Sie die Netzwerkadresse wie oben beschrieben über Ihren Webbrowser einstellen.

6.4 Installation der PC-Software

Zur Installation der Bediensoftware auf Ihrem Rechner führen Sie dann die Datei „setup_tracemon“ aus. Sie werden dabei aufgefordert, die neue IP-Adresse anzugeben. Überschreiben Sie dazu die vorgeschlagene werkseitige IP-Adresse. Falls Sie keine Änderung der IP-Adresse vorgenommen haben bestätigen Sie mit „Weiter“.

Während der Installation werden Sie aufgefordert, die Speicherorte für das Programm und die späteren Messdaten festzulegen. Anschließend startet die Software das Gerät mit der angegebenen IP-Adresse und verbindet sich automatisch mit dem BioPAT® Trace.

6.5 Ändern der Start-Einstellungen

Falls Sie zu einem späteren Zeitpunkt die IP-Adresse geändert haben, sollten Sie anschließend auch die Start-Einstellungen in der Programmverknüpfung des Start-Icons aktualisieren, damit das Gerät auch weiterhin automatisch verbunden wird. Gehen Sie dazu wie folgt vor:

1. Wechseln Sie mit der Bildschirmanzeige auf den Desktop.
2. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf das Start-Icon.
3. Wählen Sie den Unterpunkt „Eigenschaften“.
4. Tragen Sie an der in der folgenden Abbildung 61 gekennzeichneten Stelle Ihre neue IP-Adresse ein.
5. Bestätigen Sie die Änderung mit „Übernehmen“ und anschließend „OK“

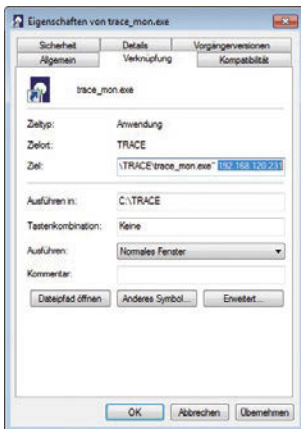


Abbildung 61: Start-Einstellungen

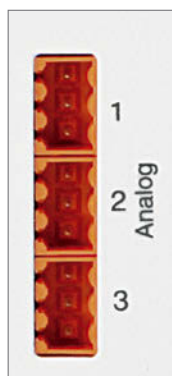


Abbildung 62: Analogausgänge

6.6 Belegung der Analogausgänge

Die ermittelten Messwerte stehen zur weiteren Verwendung als Analogsignale an den Buchsen Analog 1 (Messkanal 1 – Glukose) und Analog 2 (Messkanal 2 – Laktat) zur Verfügung. Bei Anwendung der Methode Ethanol | Methanol wird das Signal auf Analog 1 ausgegeben. Der Ausgang Analog 3 ist nicht belegt.

1-1	0 (2) -10 V	2-1	0 (2) -10 V
1-2	GND	2-2	GND
1-3	0 (4) - 20 mA	2-3	0 (4) - 20 mA

Im Menü „Parameter“ (7.1.4.1.) kann das Ausgabeformat jeweils zwischen 0 – 10 V und 2 – 10 V bzw. 0 – 20 mA und 4 – 20 mA umgeschaltet werden. Hier werden auch die Ausgabebereiche der Analogausgänge eingestellt.

Die Ausgabebereiche der Analogausgänge können wie in Kapitel 7.1.4.1 „Parameter“ auf Seite 102 beschrieben eingestellt werden.

Das Signal am Analogausgang wird jeweils bei Vorliegen eines neuen Messwertes geändert und bleibt unverändert, bis:

- a) ein neuer Messwert vorliegt,
- b) das Gerät neu gebootet wird,
- c) „neues Schlauchset“ aktiviert wird.

6.7 Inbetriebnahme des Gerätes

Vor jeder Inbetriebnahme sollte BioPAT® Trace auf eine Funktionsbereitschaft hinsichtlich sämtlicher Module am Gerät überprüft werden. Folgende Bedingungen sind am Gerät sorgfältig zu kontrollieren:

- Sind die zwei Original-Pumpenkassetten richtig eingelegt?
- Ist das Schlauchset vollständig und korrekt angeschlossen?
- Ist in der Betriebsart Methanol | Ethanol der Enzymreaktor eingebaut?
- Befindet sich die Messzelle in der Halterung?
- Stehen ausreichende Mengen an Transportpuffer, sowie die entsprechenden Kalibrierlösungen bereit?

Anschließend kann das Gerät gestartet werden.

In Kapitel ► „7. Bedienung“ auf Seite 85 sind die dazu notwendigen Funktionen der Bediensoftware im Detail beschrieben. Grundsätzlich ist folgender Ablauf einzuhalten:

- 1) Wählen Sie im Menü „Grundeinstellungen“ die Messmethode aus (Kapitel ► „7.1.4.2 Grundeinstellung“ auf Seite 106).
- 2) Legen Sie im Menü „Parameter“ fest, welche Kalibrierstandards und welche Mess- und Kalibrierfrequenz Sie nutzen wollen (Kapitel ► „7.1.4.1 Parameter“ auf Seite 102).
- 3) Sind alle Schlauchleitungen und Probenahmeleitungen angeschlossen starten sie das Befüllen (Kapitel ► „7. Bedienung“ auf Seite 85).
- 4) Das Gerät startet nach dem Priming automatisch mit den Messungen (falls Option Autostart aktiviert wurde) oder geht in den Bereitschaft-Zustand über.

Falls Sie mit der Methode Dialyse arbeiten, müssen Sie rechtzeitig eine Referenzmessung durchführen, um aussagekräftige Messergebnisse zu erhalten. Gehen sie dazu wie in Kapitel ► „7. Bedienung“ auf Seite 85 beschrieben vor.

6.8 Außerbetriebnahme

Das Gerät kann jederzeit durch Ausschalten des Netzschalters außer Betrieb genommen werden. Die zuletzt gespeicherten Kalibrier- und Referenzwerte bleiben dabei für den nächsten Start erhalten (siehe Abschnitt ► „7.1.2.1 Anbinden“ auf Seite 93).

Wird das Messgerät für zwei Tage (z.B. über das Wochenende) außer Betrieb genommen, so kann das System, mit Puffer gefüllt, stehen bleiben. Bei einer längeren Nichtnutzung muss das Schlauchset vor einem erneuten Start gewechselt werden.

In der Betriebsart Methanol | Ethanol muss der Enzymreaktor bei einer Außerbetriebnahme ausgebaut und kühl gelagert werden (siehe Kapitel 6.2.5 Anschluss und Ausbau des Enzymreaktors).

7. Bedienung

Das BioPAT® Trace wird am Netzschalter auf der Rückseite eingeschaltet und über einen externen PC angesteuert.

Auf dem Desktop des PC befindet sich das Start-Icon . Durch Doppelklick wird die Anwendung gestartet. Die in Abbildung 63 gezeigte Bedienoberfläche erscheint.

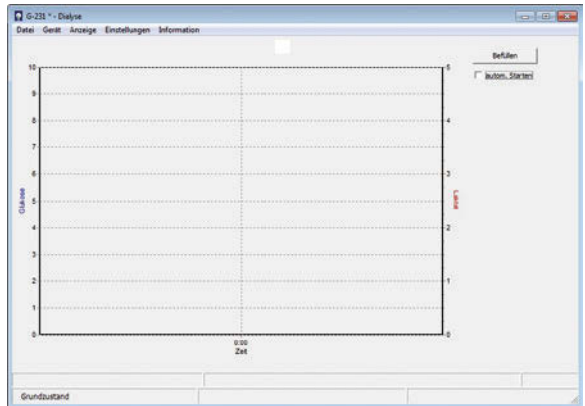


Abbildung 63: Startseite mit Kennzeichnung der Auswahl- und Anzeigebereiche

In der Kopfzeile erscheint die Gerätenummer. Hier 231*. Das Sternchen zeigt an, dass der Computer zur Steuerung eine Verbindung mit dem BioPAT® Trace hat. Liegt keine Verbindung zum Messgerät vor, so muss diese hergestellt werden (siehe Abschnitt ► „6.3.1 Anschluss über Ethernet“ auf Seite 80).

In der Menüleiste sind folgende Punkte anwählbar: Datei, Gerät, Anzeige, Einstellungen und Information.

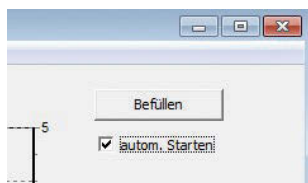


Abbildung 64: Autostart

In dem Messfenster in der Mitte werden die Glukose und Laktatmesswerte gegen die Zeit aufgetragen. Die Glukosewerte werden durch blaue Punkte dargestellt und die Laktatmesswerte durch rote Punkte.

Unter dem Messfenster wird der Status des Gerätes angezeigt. Zu Beginn befindet sich das Gerät im Grundzustand. Rechts neben dem Messfenster befindet sich der Bereich für kontextbasierte Auswahlstasten.

Nach einem Neustart des Gerätes ist es zunächst notwendig, das Schlauchset komplett zu Befüllen und einige Vormessungen ablaufen zu lassen, damit sich das Sensorsystem in einen stabilen Zustand befindet, bevor die Kalibrierung beginnt. Dieser sogenannte Priming-Prozess beinhaltet neben dem Befüllen und den Vormessungen auch eine initiale Kalibration des Systems. Nach dem Priming geht das Gerät in den Zustand „Bereitschaft“ über. Der gesamte Vorgang benötigt je nach gewählter Messmethode zwischen 40 bis 60 Minuten.

Es besteht aber auch die Möglichkeit, das BioPAT® Trace direkt nach dem Priming selbständig mit den Messungen beginnen zu lassen. Für den Autostart wird im Auswahlfeld „autom. Starten“ ein Häkchen gesetzt (Abbildung 64), dann startet das Gerät nach dem initialen Kalibrieren automatisch mit der Messung.

Wird die Taste „Befüllen“ gedrückt, so startet das Gerät mit der Befüllung und die Taste „Befüllen“ verschwindet.



Wenn Sie das System mit Autostart in Betrieb nehmen, stellen Sie vorher sicher, dass das Schlauchset ordnungsgemäß an die Probenahme am Bioreaktor angeschlossen wurde.

Ist die Messbereitschaft hergestellt, so wird dies in der Zeile unten rechts angezeigt (Abbildung 65). Im Filtrationsmodus stehen nach Erlangung der Messbereitschaft zwei Tasten zur Verfügung. Zum einen die Taste „Kalibrieren“, um eventuell eine erneute Kalibrationsmessung mit dem Gerät durchzuführen und zum anderen die Taste „Start“, um den Beginn der Messungen auszulösen.

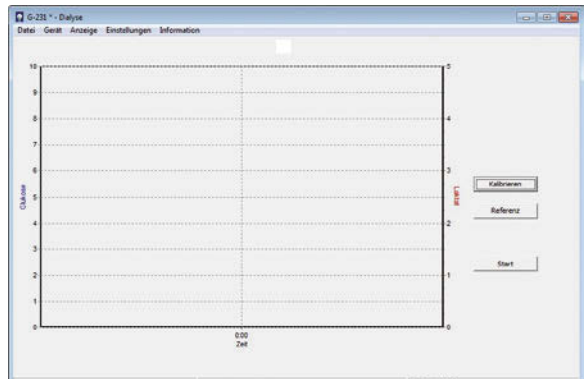


Abbildung 65: Bildschirmanzeige im Zustand „Bereitschaft“

Im Dialysemodus erscheint eine dritte Taste rechts neben dem Messfenster mit der Beschriftung „Referenz“. Wird die Taste „Referenz“ aktiviert, so beginnt das Gerät mit einer Referenzmessung zur Kalibration der angeschlossenen Dialysesonde.

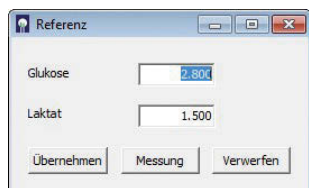


Abbildung 66: Anzeige nach Referenzmessung

Referenz (nur für Dialyse)

Zum Abgleich der Durchlässigkeit der beiden Diffusionsmembranen in der Diffusionszelle (die nur mit den Kalibrierlösungen in Kontakt gebracht werden kann) und in der Dialysesonde (die nur in Kontakt mit dem Reaktorinhalt steht), ist eine Referenzmessung notwendig. Das Verhältnis beider Membranen zueinander wird dann in einem Referenzfaktor festgehalten, der in die Berechnung der Messwerte eingeht.

Sie können eine Referenzmessung jederzeit durchführen, insbesondere, wenn sich im Prozess Änderungen ergeben, die einen Einfluss auf die Diffusionsgeschwindigkeit haben könnte (z.B. nach Temperaturänderungen).

Referenzmessungen können auch routinemäßig durchgeführt werden, z.B. wenn Proben für die externe begleitende Analytik genommen werden. Der Messwert wird erst dann über einen neuen Referenzfaktor korrigiert, wenn der neue Referenzwert eingegeben und mittels „Übernehmen“ bestätigt wurde. Bis dahin werden zwischenzeitlich ermittelte Messwerte immer mit dem aktuell gültigen Referenzfaktor berechnet und angezeigt.

Das Gerät startet mit einem Referenzfaktor von 1,0. Wären beide Membranen in gleichem Masse durchlässig, wäre dieser Wert korrekt. In der Praxis hat sich jedoch gezeigt, dass fertigungsbedingt und durch Einflüsse der Umgebungsbedingungen der Sonde Unterschiede resultieren.

Der Abgleich funktioniert wie folgt: Nach Auslösen der Taste „Referenz“ bestimmt das Gerät die Konzentrationswerte im Reaktor und schlägt entsprechende Werte vor (siehe Abbildung 66).

Sie müssen nun anhand einer Referenzprobe überprüfen, ob diese korrekt sind und ggf. korrigieren. Falls Sie die Konzentrationswerte kennen (z.B. aus der Einwaage) können Sie die Werte direkt eingeben. Sie können die Konzentrationen im Reaktor auch anhand einer externen Probe mit einem Offline Analysator bestimmen.

Mit „Übernehmen“ bestätigen Sie die vorgeschlagenen Messwerte. Falls Sie Änderungen vornehmen möchten, tragen sie die neuen Werte in das Eingabefeld ein (mit Dezimalpunkt) und bestätigen Sie mit „Übernehmen“.

Mit der Funktion „Verwerfen“ brechen Sie den Vorgang ab und kehren zur Ausgangslage zurück.

Solange das Eingabefenster offen ist, und keine neuen Referenzwerte eingetragen und bestätigt wurden, arbeitet das BioPAT® Trace mit dem aktuell gültigen Referenzfaktor weiter.

Für den Fall, dass die Bestimmung einer Referenzmessung an einem externen Analysegerät länger dauern wird und während dieser Zeit eine Konzentrationsänderung im Medium zu erwarten ist, sollten Sie die Referenzmessung abwarten und erst dann eine Probe für die externe Analyse ziehen. Wenn das Eingabefenster für die Referenzwerte erscheint, hat sich das Gerät die aktuelle gemessene Konzentration gemerkt und wird die später eingegebenen Werte mit dieser Konzentration vergleichen und den neuen Referenzfaktor bestimmen.

Falls kein offline Gerät zur Ermittlung der Referenzwerte verfügbar ist, können Sie die Probe auch am BioPAT® Trace direkt vermessen. Wählen Sie dazu die Funktion „Messung“ und folgen Sie den weiteren Anweisungen der Menüführung (Abbildung 67).



Abbildung 67: Aufforderung zur Entnahme einer Probe und Anschluss an den 3-Wegehahn

Entnehmen Sie eine zellfreie Probe aus dem Bioreaktor (mindestens 5 mL), füllen diese in eine 5 mL Spritze und schließen diese an den 3-Wegehahn an wie in Abbildung 68 dargestellt. Achten Sie dabei auf die korrekte Stellung des Dreivegehahns: Die Pfeile des Hahns müssen zur grünen Schlauchmarkierung und zur Spritze zeigen.



Abbildung 68: Anschluss der externen Probe



Führen Sie „Probe bereit“ nur aus, wenn Sie sicher sind, dass die gefüllte Spritze angeschlossen und der Dreiwegehahn in der richtigen Stellung steht. Ansonsten werden fehlerhafte Messwerte resultieren!

Mit „Probe bereit“ lösen Sie die Vermessung der externen Probe aus. Es werden drei Messungen durchgeführt und der Mittelwert wird als Ergebnis angezeigt. Sie können dann wie oben beschrieben die Messwerte übernehmen, korrigieren, verwerfen oder eine erneute Messung einer externen Probe durchführen.



Abbildung 69: Korrekte Stellung des Dreiwegehahns

Bevor Sie weiterarbeiten, stellen Sie sicher, dass das Dreiwegeventil nach Entfernen der externen Probe wieder in den Ausgangszustand gestellt wurde (siehe Abbildung 69), um bei der nächsten Kalibration den Standard 1 korrekt zu vermessen.



Stellen Sie unbedingt sicher, dass der Dreiwegehahn wie abgebildet eingestellt ist. Ansonsten werden alle folgenden Kalibrierungen fehlerhaft und die resultierenden Messwerte falsch sein!

7.1 Menüleiste

7.1.1 Menüpunkt Datei

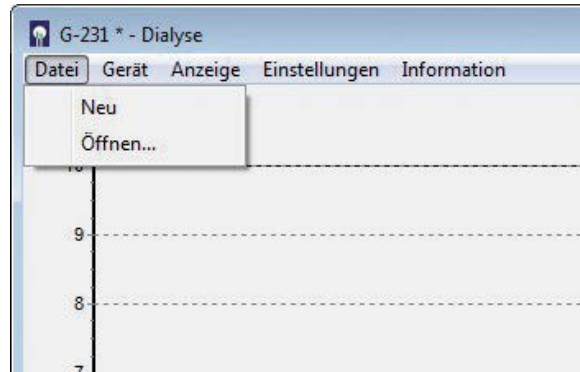


Abbildung 70: Menü-Optionen „Datei“

Die Messdaten werden im Textformat in einer ptd-Datei aufgezeichnet und standardmäßig im Unterordner „Daten“ abgelegt. Soll eine neue Datei angelegt werden, so wählt man den Unterpunkt „Neu“.

Sollen Messdaten aus einer älteren Datei geladen und angezeigt werden, muss der Unterpunkt „Öffnen ...“ gewählt werden.

Die gespeicherten Dateien können auf einfache Weise weiterverarbeitet werden, z.B. in Excel. Hinweise zur Import als Excel Datei finden Sie in Kapitel 8.5.

7.1.2 Menüpunkt Gerät

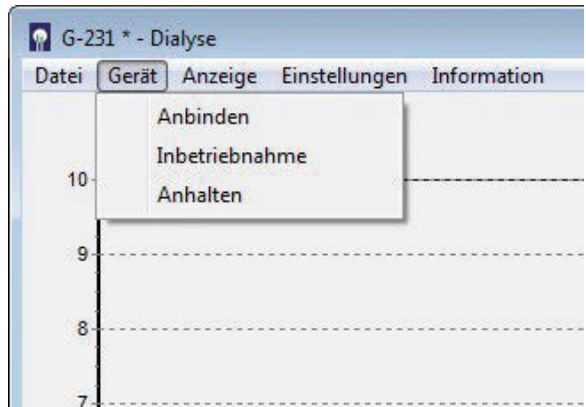


Abbildung 71: Menü-Optionen „Gerät“

Drei Unterpunkte stehen zur Verfügung: „Anbinden“, „Inbetriebnahme“ und „Anhalten“ (siehe Abbildung 71).

7.1.2.1 Anbinden

Wählt man den Unterpunkt „Anbinden“ aus, so hat man die Möglichkeit, ein neues BioPAT® Trace anzubinden (Abbildung 72). Hierzu muss die IP-Adresse des Gerätes eingegeben werden.

Falls Sie die Software über das Start-Icon  auf dem Desktop gestartet haben, befindet sich bereits die Standard IP-Adresse 192.168.120.231 in der Anzeige.

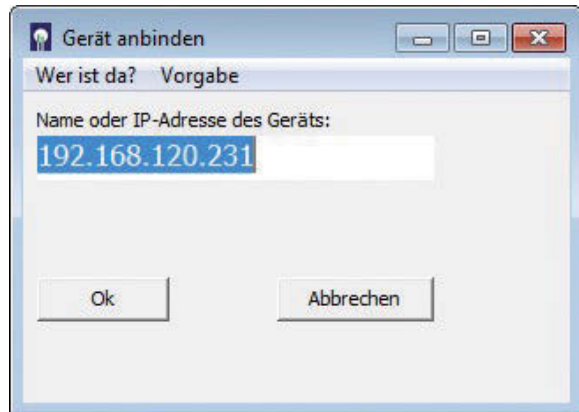


Abbildung 72: Gerät anbinden

Falls Ihr Gerät eine abweichende Adresse zugewiesen bekommen hat (z.B. von Ihrem Netzwerkadministrator), dann tragen sie diese hier ein.

Wenn Sie diese neue Adresse auch zukünftig automatisch vorgeschlagen bekommen möchten, verfahren Sie wie in Abschnitt ► „6.5 Ändern der Start-Einstellungen“ auf Seite 81 beschrieben.

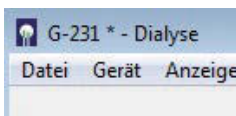


Abbildung 73:
Verbindungs-Anzeige

Wenn Sie die korrekte IP-Adresse eingetragen haben und sich das Gerät im Netzwerk befindet, wird dieses an den Steuercomputer angebunden und ein Sternchen hinter dem Gerätenamen, bzw. der Gerätenummer erscheint im Anzeigebalken.

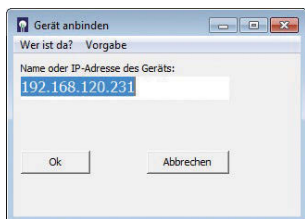


Abbildung 74: Netz durchsuchen

Alternativ kann man durch Drücken der Taste „Wer ist da?“ eine Suche nach Geräten im Netz starten. Die Ergebnisse werden nach einiger Zeit angezeigt und das gewünschte Gerät kann markiert und mit „Ok“ ausgewählt werden.

Falls keine Geräte gefunden wurden, erscheint eine Fehlermeldung. Versuchen Sie dann die direkte Eingabe der IP Adresse oder wenden Sie sich an Ihren Netzwerkadministrator.

7.1.2.2 Inbetriebnahme

Wird das Schlauchset gewechselt, so muss der Unterpunkt „Inbetriebnahme“ aufgerufen werden. „Inbetriebnahme“ setzt die bisherigen Kalibrier- und Referenzdaten außer Kraft und erfordert ein erneutes Priming des Schlauchsystems.

7.1.2.3 Anhalten

„Anhalten“ dient zur vorübergehenden Außerbetriebnahme des Systems, z.B. bei Unterbrechungen des zu überwachenden Bioprozesses, bei kurzen Betriebsunterbrechungen oder beim Anschließen von Enzymreaktoren (siehe Kapitel 6.2.5, Seite 52). Der Messbetrieb und die Messbereitschaft werden durch Betätigen des Unterpunkts „Anhalten“ unterbrochen. Alle Pumpen werden angehalten und die Ventile ausgeschaltet. Das Gerät behält in diesem Fall die gespeicherten Daten für Kalibrier- und Referenzwerte.

Betätigen Sie die Taste „Anhalten“, geht das BioPAT® Trace in den Stillstand über. Das Programm kann nun geschlossen werden. Auch das Gerät kann am Netzschalter ohne Datenverlust ausgeschaltet werden. Beim erneuten Anschalten des Gerätes oder Neustart des Steuerprogramms erscheint die in Abbildung 75 dargestellte Abfragemaske.

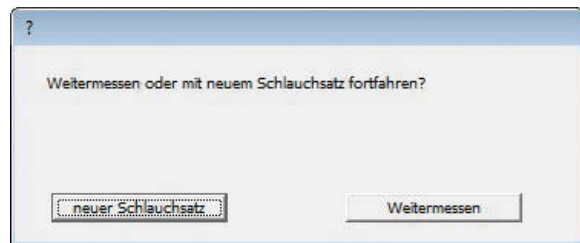


Abbildung 75: Abfragefenster bei Neustart nach „Anhalten“

Durch Betätigen der Taste „Weitermessen“ geht das System direkt in den Bereitschaftsmodus über. Es werden keine Spülvorgänge oder Kalibrierungen durchgeführt. Die alten Kalibrierwerte werden beibehalten.



Führen Sie „Weitermessen“ nur aus, wenn Sie sicher sind, dass die gleichen Bedingungen wie vor dem Anhalten herrschen (z.B. bei kurzen Unterbrechungen). Ansonsten können fehlerhafte Messwerte resultieren!

Bei längeren Unterbrechungen (z.B. über Nacht) ist es empfehlenswert, zunächst eine Kalibrierung durchzuführen, bevor mit weiteren Messungen fortgefahren wird.

7.1.3 Menüpunkt Anzeige

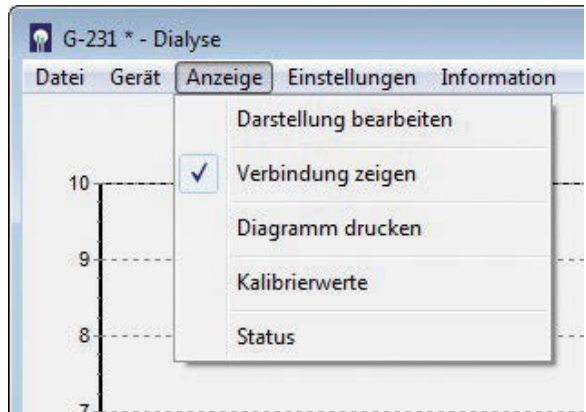


Abbildung 76: Menü-Optionen „Anzeige“

Ist der Unterpunkt „Verbindung zeigen“ aktiviert, so wird mit einem Sternchen angezeigt, dass der Steuercomputer mit dem BioPAT® Trace ordnungsgemäß kommuniziert.

Durch Auswahl des Menüunterpunktes „Diagramm drucken“ wird das aktuell gezeigte Diagramm auf einem Drucker ausgedruckt.

Wird der Unterpunkt „Kalibrierwerte“ gewählt, so wird ein Fenster mit den aktuellen Kalibrierwerten geöffnet (Abbildung 77).

Die Achsenabschnitte (a_0), Kalibrationssteigung (a_1) und die Referenzfaktoren (Referenz fr) werden angezeigt.

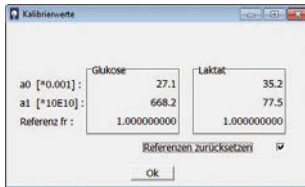


Abbildung 77: Bildschirmanzeige der aktuellen Kalibrierwerte

Aktivierung der Option „Referenzen zurücksetzen“ bewirkt, dass die Referenzfaktoren auf den Faktor 1,0 zurückgestellt werden (nur im Dialyse-Modus).

Wird der Unterpunkt „Status“ gewählt, so wird eine Informationsleiste am unteren Bildschirmrand zugeschaltet, die in drei Feldern weitere Informationen über den aktuellen Status anzeigt (siehe Abbildung 78). Diese Funktion ist insbesondere bei langen Intervallen oder bei Gruppenmessungen interessant. Im Feld 1 wird die Anzahl der anstehenden Gruppenmessungen (bzw. Vormessungen) angezeigt. Im Feld 2 zählt ein aktueller Zeitzähler die Zeit bis zum Ende der aktuellen Aktion (in Sekunden) herunter. Im Feld 3 wird die verbleibende Zeit im Intervall der Messperiode angezeigt (in Sekunden).

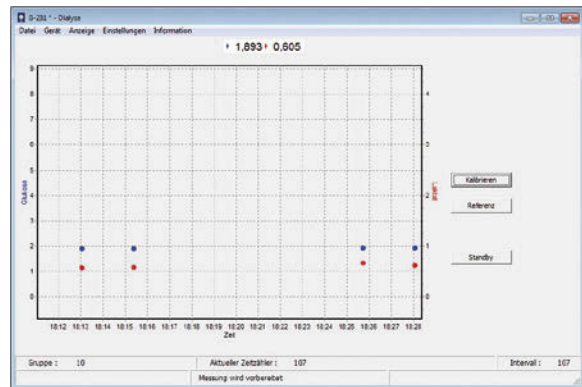


Abbildung 78: Bildschirmanzeige der Statuszeile

7.1.3.1 Darstellung bearbeiten

Die Darstellung des Diagramms kann im Unterpunkt „Darstellung bearbeiten“ verändert werden. Hier kann man die Punktgrößen, die Punktfarben sowie die Achsenskalierungen einstellen (Abbildung 79). Als Vorgabe sind die Werte für Glukose in der Farbe Blau und für Laktat in Rot dargestellt. Für Methanol bzw. Ethanol ist eine grüne Punktfarbe voreingestellt.

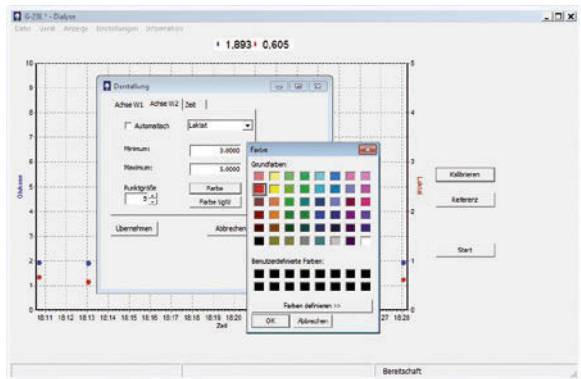


Abbildung 79: Bildschirmanzeige zur Anpassung der Messwerte-Darstellung

Während des Betriebes kann die Anzeige der Messwerte jederzeit verändert werden. Durch Drücken der rechten Maustaste erscheint das Eingabefeld zur Bearbeitung der Anzeige (Abbildung 80).

Folgende weitere Optionen stehen zur Auswahl:

- Verschieben der Grafik:
Rechte Maustaste gedrückt halten und Bewegen
- Zoomen:
Fenster von oben rechts nach unten links zeichnen (linke Maustaste gedrückt halten).
- Zurück zur Startanzeige:
Fenster von unten links nach oben rechts zeichnen (linke Maustaste gedrückt halten).

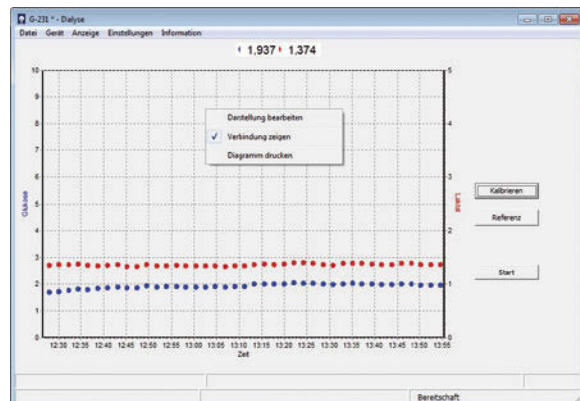


Abbildung 80: Anzeige des Messwertverlaufes

7.1.4 Menüpunkt Einstellungen



Abbildung 81: Menü-Optionen "Einstellungen"

In der Menü-Option „Einstellungen“ können die wichtigsten Einstellungen zum Betrieb und zur Kommunikation des Gerätes durchgeführt werden:

- Parameter
erlaubt die anwenderspezifische Einstellung der Messfrequenz, Kalibrierhäufigkeit, Konzentration der Kalibrierstandards etc.
- Grundeinstellung
hier wird das Gerät auf die gewählte Probenahme- methode eingestellt. Ebenso kann der Anwender Angaben zum Gerät und dem Projekt machen, die später in der Datenausgabe verwendet werden.
- Sprache
hier kann die Sprache der Menüführung verändert werden.

7.1.4.1 Parameter

Im Unterpunkt „Parameter“ können alle relevanten Parameter für den Messbetrieb eingestellt werden (Abbildung 82).

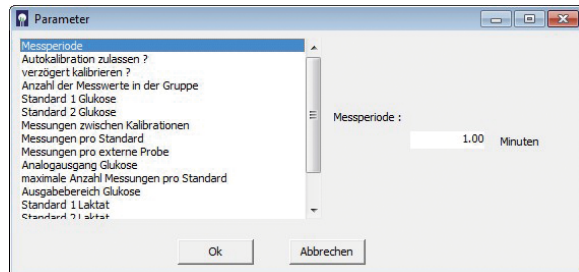


Abbildung 82: Eingabemaske zur Einstellung der Messparameter

- Messperiode
 - Geben Sie hier das gewünschte Messintervall an. Bei Wert 1 wird jede Minute bzw. mit maximaler Frequenz gemessen. Eine Analyse pro Stunde erfordert beispielsweise die Eingabe 60.
 - Eine Änderung der Frequenz ist jederzeit möglich und wird nach Bestätigen mit „Ok“ sofort wirksam.
- Autokalibration

Auswahl ja| nein. Wenn Sie die Autokalibration zulassen, findet alle x Messungen (siehe: Messungen zwischen Kalibrationen) eine automatische Rekalibration statt.
- Verzögert Kalibrieren

Normalerweise wird eine Kalibrierung nach Ablauf einer bestimmten Anzahl von Messungen durchgeführt. Bei sehr langen Intervallen (z.B. Messungen alle 6 Stunden bei Zellkultivierungen) entsteht dadurch ein sehr langer Zeitraum zwischen aktueller Kalibrierung und der nächsten Messung.

Durch Aktivieren des verzögerten Kalibrierens wird die Kalibration bis kurz vor die nächste Messung verlegt, so dass dann ein aktueller Kalibrierwert vorliegt.

- Anzahl der Messwerte in der Gruppe
Bei größeren Messintervallen kann es sinnvoll sein, zum jeweiligen Zeitpunkt mehrere Messungen mit maximaler Frequenz hintereinander ablaufen zu lassen. So könnte beispielsweise alle 6 Stunden eine Gruppe von 10 Messungen erfolgen. Die Anzahl der Messwerte in der Gruppe lässt sich hier einstellen. Es wird kein Mittelwert gebildet. Jeder Messwert wird direkt nach der Messung ausgegeben. Ist die für die Abwicklung der Gruppe notwendige Zeit größer als die Messperiode, dann beginnt die nächste Gruppe mit dem neuen Messintervall.

Für die Ermittlung der Anzahl Messungen zwischen Kalibrierungen, wird jede Messung in einer Gruppe mit berücksichtigt. Dieses ist bei der Wahl der Kalibriereinstellungen zu berücksichtigen!

- Standard-Werte (Glukose und Laktat)
Geben Sie hier die Konzentrationen der für Ihre Anwendung ausgewählten und angeschlossenen Kalibrier-Standardlösungen an.
- Messungen zwischen Kalibrationen
Hier können Sie festlegen, nach wie vielen Messungen eine automatische Kalibration stattfinden soll. Gilt allerdings nur, wenn die Autokalibration zugelassen wurde.



Sie können eine Kalibrierung jederzeit durch Drücken der Taste „Kalibrieren“ auslösen.

Bei Änderung der Autokalibrier-Angaben während des Betriebes werden die Änderungen erst mit der nächsten Kalibrierung gültig.

-
- Messungen pro Standard
Mit dieser Funktion kann die Anzahl der Messungen pro Kalibrier-Standard festgelegt werden. Pro Messung eines Kalibrierwertes wird eine Minute benötigt. Eine normale Kalibration mit 3 Messungen pro Standard benötigt somit 6 Minuten (zuzüglich Spülzeiten für den Medienwechsel).
 - Ausgabebereich Glukose Ausgabebereich Laktat
Hier werden die Ausgabebereiche der Analogausgänge eingestellt. Dabei wird folgendermaßen vorgegangen:
Es wird immer die obere Grenze des Messbereichs angegeben. Die untere Grenze ist auf 0 voreingestellt.

Bei einem gewünschten Messbereich von z.B. 0–10 g/L Glukose wird beim Ausgabebereich Glukose 10 (obere Grenze) eingestellt. Bei Auswahl des Spannungsbereichs 0–10 V entsprechen 10 Volt dann 10 g/L Glukose.

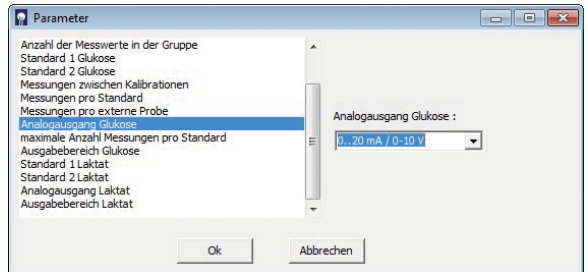


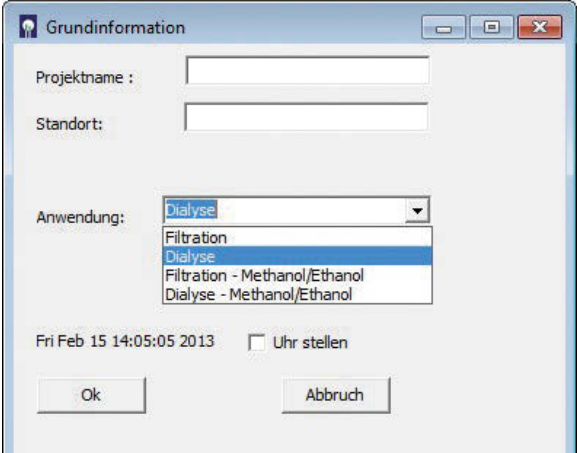
Abbildung 83: Umschalten der Analogausgabe

Hier kann die Ausgabe der Signale auf den Analogausgängen zwischen 0-20 mA und 4 – 20 mA, sowie zwischen 0-10 V und 2-10 V umgeschaltet werden (siehe Abbildung 83)

7.1.4.2 Grundeinstellung

Der Unterpunkt „Grundeinstellung“ ermöglicht wichtige Eingaben für die Durchführung und Dokumentation der Messungen (Abbildung 84). Vor der Durchführung der Messung können Projektname, Standort des Gerätes und ID des Benutzers eingegeben werden.

Wichtigster Punkt ist die Auswahl der verwendeten Anwendung. Zur Auswahl stehen Filtration, Dialyse für die Bestimmung von Glukose und Laktat, sowie Filtration-Methanol | Ethanol und Dialyse-Methanol | Ethanol.



The image shows a Windows-style dialog box titled "Grundinformation". It has three input fields: "Projektname :", "Standort:", and "Anwendung:". The "Anwendung:" dropdown menu is open, showing a list of options: "Dialyse", "Filtration", "Dialyse", "Filtration - Methanol/Ethanol", and "Dialyse - Methanol/Ethanol". Below the dropdown, the date "Fri Feb 15 14:05:05 2013" is displayed next to a checkbox labeled "Uhr stellen". At the bottom of the dialog are two buttons: "Ok" and "Abbruch".

Abbildung 84: Eingabemaske zur Grundeinstellung



Prüfen Sie vor dem Arbeiten mit einem neuen Schlauchsatz immer, ob die richtige Anwendung gewählt wurde! Ansonsten sind falsche Messwerte oder die Zerstörung des Schlauchsets die Folge!

Durch Setzen einer Markierung in „Uhr stellen“ können Sie die Systemzeiten Ihres PC und des BioPAT® Trace abgleichen. Die PC-Systemzeit wird dann im BioPAT® Trace übernommen.

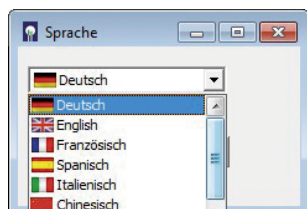


Abbildung 85: Auswahlfenster zur Spracheinstellung

7.1.4.3 Sprache

Im Unterpunkt „Sprache“ kann die Spracheinstellung ausgewählt werden (Abbildung 85).

7.1.5 Menüpunkt Information

Beim Aufrufen des Menüpunktes „Information“ werden die aktuellen Softwareversionsnummern des BioPAT® Trace und der Steuersoftware angezeigt.

7.2 Statusmeldungen der LED

Um den Gerätestatus auch unabhängig von der Bediensoftware auf einem angeschlossenen PC direkt am BioPAT® Trace ablesen zu können, sind die verschiedenen Betriebszustände anhand der frontseitigen LED ablesbar. Die folgende Tabelle 4 gibt einen Überblick über die LED Signale:

Status	Aktion	LED1 (grün)	LED 2 Farbe	LED 2 Status
In- und Ausserbetriebnahme				
Boot-Vorgang		an	weiss	an
Anhalten		an	cyan	an
Befüllen		an	cyan	blinkt
Vormessen		an	grün cyan	blinkt
Messbetrieb				
Messbetrieb	beladen	an	grün	an
Messbetrieb	entladen	an	grün	blinkt
Messpausen				
Bereitschaft	Bereitschaft	an	gelb	an
Intervall	Ruhe	an	gelb	blinkt
Spülvorgänge				
Medienwechsel		an	magenta	an
Sonde spülen		an	magenta	blinkt
Kalibrationen				
Kalibration	beladen	an	blau	an
Kalibration	entladen	an	blau	blinkt
Referenz	beladen	an	blau	an
Referenz	entladen	an	blau	blinkt
Störungen				
Keine Netzverbindung		an	rot	an

Tabelle 6: Statusmeldungen der LED

8. Tipps und Checkliste

8.1 Auswahl der geeigneten Standardlösungen

Für eine optimale Abdeckung der erwarteten Konzentrationsverläufe stehen verschiedene Kombinationen von Kalibrierstandardlösungen zur Verfügung. Wir empfehlen jeweils den höherkonzentrierten Standard als Standard 1 anzuschließen.

Je nach Prozessbedingungen und Zielsetzung der Kultivierung sind verschiedene Konzentrationsbereiche abzudecken. Grundsätzlich sollte der Konzentrationsbereich zwischen den Konzentrationen der Standardlösungen liegen, um eine optimale Messgenauigkeit sicherzustellen. Außerdem ist es immer ratsam einen Standard mit sehr niedriger Konzentration zu wählen, um Messwerte nahe Null sicher zu bestimmen.

Bei Regelungen sollten die Konzentrationen der Kalibrierstandards nicht zu weit vom Regelpunkt entfernt liegen. Beispielsweise ist für eine Regelung bei 1 g/L sinnvoller mit einer Kombination 0,5 g/L und 4 g/L zu arbeiten als mit z.B. 1 g/L und 10 g/L.

8.2 Dialyse-Modus: Referenzierung zu Beginn einer Fermentation

Bei der Verwendung der Dialyse-Methode ist es notwendig, eine Referenzierung durchzuführen, um die Durchlässigkeiten der Membranen innerhalb des Reaktors und außerhalb in der Diffusionszelle miteinander abzugleichen, sowie Temperaturunterschiede zwischen beiden Membranen zu kompensieren. Eine zuverlässige Bestimmung des Referenzfaktors ist deshalb für die Qualität der Messergebnisse sehr wichtig.

Es wird deshalb empfohlen, den Referenzwert möglichst frühzeitig zu Beginn der Kultivierung zu bestimmen und dabei eine Phase ohne Konzentrationsschwankungen im Medium zu nutzen. Inaktivieren Sie dazu die Autokalibration und stellen Sie zunächst das Messintervall auf 1. Verfolgen Sie danach einige Messwerte. Wenn diese nicht zu stark streuen und möglichst konstant liegen, können Sie die Referenzmessung auslösen. Nach der Referenzierung sollten Sie noch einige Messungen abwarten und überprüfen, ob die neu berechneten Werte Ihren Erwartungen entsprechen. Gegebenenfalls können Sie die Referenzierung auch wiederholen. Wenn Sie mit dem Ergebnis einverstanden sind, können Sie die Messparameter wieder verändern und mit der Kultivierung beginnen.

8.3 Dialyse-Modus: Referenzierung bei niedrigen Laktat-Konzentrationen

In vielen Fällen liegt bei Beginn einer Kultivierung Glukose im Überschuss vor und das Medium ist (noch) frei von Laktat. Bei der Durchführung einer Referenzierung schlägt das BioPAT® Trace nach der Referenzmessung einen Wert vor, der in der Regel durch Eingabe des bekannten Wertes (aus der Medienzusammensetzung bekannt oder mit einem externen Analysator ermittelt) überschrieben wird. Falls die vorhandene Laktatkonzentration noch sehr klein ist, überschreiben sie diesen Wert zunächst noch nicht (der Referenzfaktor für Laktat bleibt dann bei 1,0). Im weiteren Verlauf der Kultivierung kann dann der Anstieg der Laktatkonzentration besser beobachtet werden und zu gegebener Zeit eine normale Referenzierung, bei der beide Werte überschrieben werden, durchgeführt werden.

8.4 Vermeidung von Kontaminationen im Schlauchset

Bei länger andauernden Prozessen (Wochen) kann es mit der Zeit zur Bildung von Biofilm im Schlauchset kommen. Das kann zum Verstopfen der Leitungen oder zu stark schwankenden Messwerten führen. Dieses ist insbesondere der Fall, wenn der Vorratsbehälter der betriebsbereit verdünnten Transportlösung immer wieder mit frischer Lösung nachgefüllt wird. Es ist vorteilhaft, den fast leeren Behälter komplett gegen einen neuen Behälter mit frischer Lösung auszutauschen, um eine Verschleppung von Keimen zu vermeiden.

Eine weitere Möglichkeit des Eintrags von Keimen in das Schlauchset ist die Spülleitung der Messzelle beim Entfernen von Luftblasen in der Messkammer. Verwenden Sie deshalb nur frische Lösungen und | oder einen Sterilfilteraufsatz für diesen Zweck.

In einigen Fällen von Langzeitkultivierungen wurde beobachtet, dass sich Biofilme in der Abfallleitung ansiedeln und sich bis in die Tropfkammer ausbreiten. Auch hierzu ist es ratsam, Abfallgefäße regelmäßig auszutauschen und das Eintauchen der Abfallleitung in den Abfall zu verhindern. Als weiterer Schutz kann dem Abfallbehälter eine Desinfektionslösung (siehe Verbrauchsmaterial Tabelle 3) zugesetzt werden.

Bei Anwendung der Methode Filtration kann die Desinfektionslösung sogar dem Transportpuffer direkt zugesetzt werden (0,5% V/V). Dadurch wird der effektivste Schutz vor Verkeimung erreicht. Für die Methode Dialyse ist dieses Vorgehen leider nicht möglich, da die Transportlösung die Dialysemembran hinterspült und das Desinfektionsmittel dabei über die Membran direkt in den Reaktor gelangen kann.

8.5 Datenimport in Excel

Die Messwerte des BioPAT® Trace werden als ptd-Datei auf dem Rechner gespeichert. Für eine Weiterverarbeitung in Excel können die Daten importiert werden. Der Datenimport der ptd-Datei in Excel erfolgt in sieben Schritten:

1. Öffnen Sie das Programm MS Excel

2. Wählen Sie Datei | Öffnen

und wählen Sie das Verzeichnis aus in der die ptd-Datei gespeichert ist.

3. Aktivieren Sie „Alle Dateien“ (orange Markierung)

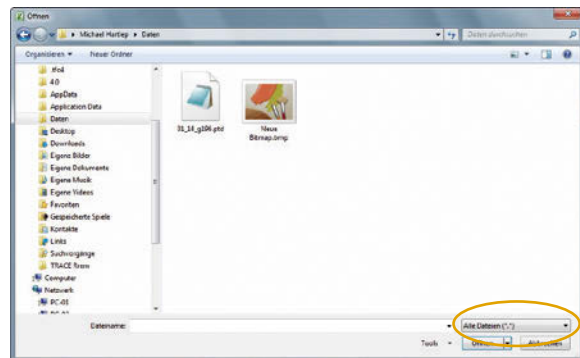


Abbildung 86: Datenimport der ptd-Datei in Excel. Aktivieren Sie „Alle Dateien“

4. Markieren Sie die ptd-Datei (orange Markierung)

Bestätigen Sie diese Auswahl durch Betätigen der Taste „Öffnen“ (rote Markierung).

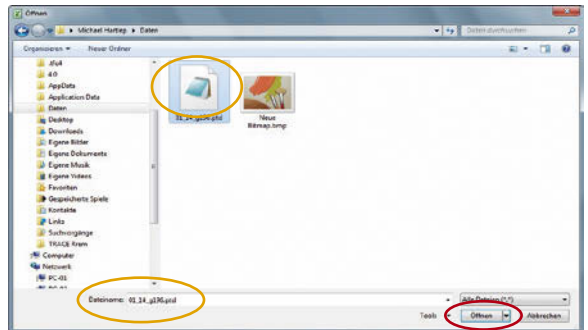


Abbildung 87: Datenimport der ptd-Datei in Excel „Markieren der ptd-Datei“

5. Textkonvertierungs-Assistent (Schritt 1)

Anschließend startet der Textkonvertierungs-Assistent. In drei Schritten wird die Datei eingelesen. Im ersten Schritt des Textkonvertierungs-Assistenten wählen Sie das Feld „Getrennt“ (orange Markierung). Dieser Schritt wird mit Drücken der Taste „Weiter“ (rote Markierung) beendet.

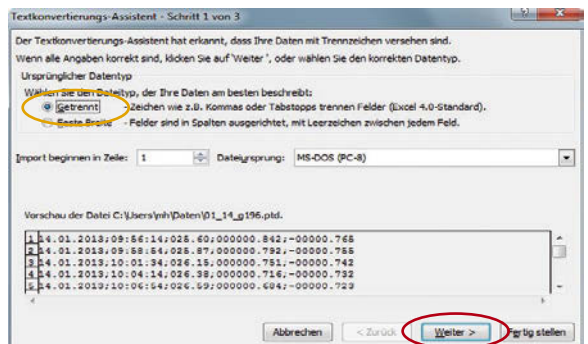


Abbildung 88: Datenimport der ptd-Datei in Excel, Textkonvertierungs-Assistent Schritt 1

6. Textkonvertierungs-Assistent (Schritt 2)

In diesem Schritt wird das Trennzeichen „Semikolon“ ausgewählt (orange Markierung) und durch Drücken der Taste „Weiter“ bestätigt (rote Markierung).

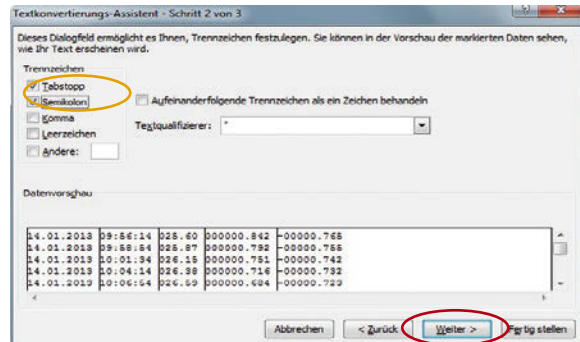


Abbildung 89: Datenimport der ptd-Datei in Excel, Textkonvertierungs-Assistent Schritt 2

7. Textkonvertierungs-Assistent (Schritt 3)

In diesem Schritt wird die Option „Weiter“ gewählt (orange Markierung).

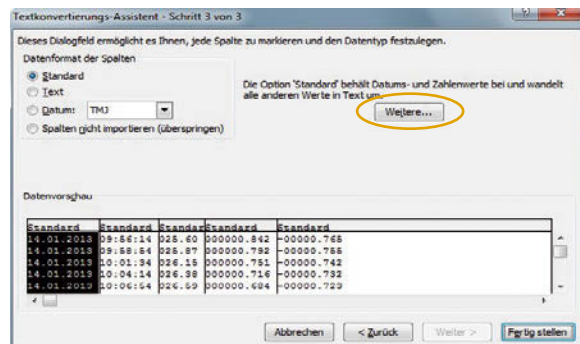


Abbildung 90: Datenimport der ptd-Datei in Excel, Textkonvertierungs-Assistent Schritt 3

Hier können „Weitere Textimporteinstellungen“ gewählt werden. Als Dezimaltrennzeichen wird der Punkt „.“ und als 1000er Trennzeichen wird ein Leerzeichen eingestellt (rote Markierung).

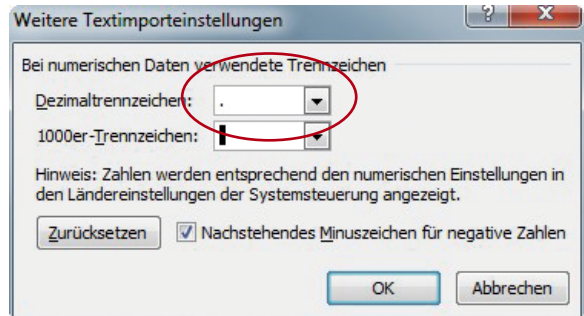


Abbildung 91: Datenimport der ptd-Datei in Excel
„Weitere Textimporteinstellungen“

Nach Bestätigung dieses Fensters mit „OK“ wird auch der Schritt 3 des Textkonvertierungs-Assistenten mit „Weiter“ bestätigt. Die Daten der ptd-Datei liegen nun in einer Excel-Tabelle vor.

Checkliste zur Inbetriebnahme

Arbeits- schritt	Aktion	Kapitel	Seite	Abbildung	Checkliste
0	Installation der PC-Software (nur bei der Erstinbetriebnahme)	6.3 und 6.4	77ff	59 – 61	
	Aufrufen der Internetseite des Gerätes		77	–	
	Herunterladen des Installationsprogramms		77ff	–	
	Ausführen des Installationsprogramms		78ff	–	
	Einstellen der IP-Adresse und der Subnetzmaske		79	59 – 61	
1	Vorbereitung der Sonden	6.2.6 und 6.2.7	55ff	37 – 58	
	Einbau der Membran		55ff 64ff	37 – 40 50 – 53	
	Nur für Filtration: Hydrophilisierung der Membran mit Isopropanol		69ff	54 – 56	
	Einbau der Sonde in den Reaktor (und ggf. Sterilisation)		58ff 74ff	41 – 43 –	
2	Vorbereitung des Transportpuffers und des Abfallgefäßes	6.2.2 und 8.4	44 111	–	
	Pufferkonzentrat verdünnen und in Flasche bereitstellen		42	–	
	ggf. Abfallgefäß mit Desinfektionsmittel bereitstellen		111	–	
3	Verschlauchung des Gerätes	6.2.2 bis 6.2.4	42ff	17 – 33	
	Führungsplatte ausrichten und leicht öffnen		45ff	19	
	Ventilschläuche einlegen und in den Ventilschlitz herunterziehen		46	20 – 22	
	Führungsplatten als Sicherung an die Ventile heranschieben		47	23	
	Pumpen aufstecken und einrasten		47ff	24 – 26	
	Messzelle in die Aufnahme einsetzen und mit Rändelmutter fixieren		48ff	28 – 29	
	Diffusionsmodul anbringen		50	30	
	Einstecken der Tropfenzähler		50	31	
	nur für Dialyse: 3-Wege Hahn anschließen (optional)		51	32 – 33	

Arbeits- schritt	Aktion	Kapitel	Seite	Abbildung	Checkliste
4	Anschluss der Zu- und Ableitungen	6.2.2	44	–	
	Anschluss der Verschlauchung an den Transportpuffer		44	–	
	Anschluss der Verschlauchung an die Kalibrierlösungen		44	–	
	Anschluss der Abfall-Leitung an das Abfallgefäß		44	–	
5	Anschalten des Gerätes	7	85	–	
	Einschalten des Netzschalters auf der Rückseite des Gerätes	7	85	–	
	Booten des internen Rechners abwarten (weisse LED wechselt auf rot)	7.2	108	–	
6	Starten der PC-Software	7	85ff	63 – 73	
	Doppelklick der Start-Icons auf dem Desktop (trace-mon)		85	63	
	Automatischen Verbindungsaufbau abwarten oder Gerät anbinden	7 und 7.1.2.1	85 93ff	72	
	Start mit „neuem Schlauchsatz“ auswählen		96	73	
7	Einstellung der Betriebsparameter (Menue „Einstellungen“)	7.1.4	101ff	79 – 80	
	Grundeinstellung	7.1.4.2	105ff	82	
	Auswahl der Messmethode (Filtration, Dialyse)		105ff	82	
	Messparameter	7.1.4.1	102ff	80 – 81	
	Einstellung der Messperiode		102	–	
	Eingabe der Kalibrierstandard-Werte		103	–	
	Anlegen einer Datei zum Speichern der Messwerte	7.1.1	92	70	
8	Anschluss der Probenahmesonde	6.2.6.4 und 6.2.7.9	60 76	44 – 45 57 – 58	
	Filtrations- oder Dialysesonde an die Verschlauchung anschließen		60 76	44 – 45 57 – 58	
9	Start der Messungen	7	85ff	64 – 65	
	Betätigung der Taste „Befüllen“ und Kalibration abwarten		86ff	64 – 65	
	Alternativ: Aktivierung der Option „autom Start“ – Gerät geht nach Befüllen und Kalibration automatisch in den Messbetrieb über		86ff	64 – 65	

Arbeits- schritt	Aktion	Kapitel	Seite	Abbildung	Checkliste
10	Nur für Methanol Ethanol: Anschluss Enzymreaktor	6.2.5	52ff	34 – 36	
	Einbau des Enzymreaktor in das Schlauchset		52ff	34 – 36	
11	Messkammer überprüfen	5.3 und 6.2.6.4	34 60	-	
	Messkammer auf Abwesenheit von Luftblasen prüfen ggf. spülen		34 60	-	
12	Nur für Dialyse: Referenzierung durchführen	7	88ff	66 – 69	
	Referenzierung mit externer Probe oder bekanntem Messwert		88ff	66 – 69	
13	Optional: Anschluss des Analogausgangs an das Prozessleitsystem	6.6	82	62	
	Anschluss des Analogausgangs (0 – 10 V, 4 – 20 mA bzw. 0 – 20 mA)		82	62	

Tabelle 7: Checkliste zur Inbetriebnahme

9. Hilfe bei Störungen

Lässt sich das BioPAT® Trace nicht starten oder treten Funktionsstörungen während des Betriebes auf, so sind in der Regel erfahrene Anwender für Instandhaltung bzw. Servicemitarbeiter des Herstellers für Reparaturen hinzuzuziehen.



Um Lebensgefahr durch elektrischen Stromschlag zu vermeiden,

- **sind Arbeiten an der elektrischen Ausrüstung nur von qualifiziertem und befugtem Fachpersonal auszuführen!**
 - **dürfen nur solche Störungen selbständig beheben werden, die offensichtlich auf Bedienungs- oder Wartungsfehler zurückzuführen sind!**
 - **versuchen Sie auf keinen Fall, Störungen an der elektrischen Ausrüstung zu beheben!**
-

Bei Problemen mit BioPAT® Trace zunächst die folgenden Tabellen 8 und 9 aufmerksam lesen, die eine Übersicht über mögliche Störungen geben:

Fehler Fehlermeldung	Mögliche Ursache
Kalibration gescheitert	Kalibrierstandard leer Transportpuffer leer Luftblase in der Messkammer Falsches Schlauchset verwendet Messzelle nicht richtig eingelegt Falsche Methode gewählt Ventilschläuche falsch oder nicht eingelegt nur Dialyse: Drei-Wege-Hahn falsch eingestellt Schlauchset veraltet Leckage im Schlauchset Kalibrierleitung blockiert oder Schlauchset verstopft Software-Versionen Gerät PC passen nicht zueinander Ventil (gelb) schaltet nicht
Messwert zu hoch oder zu niedrig	Kalibration fehlerhaft Parametereintrag „Standard“ und tatsächlicher Standard stimmen nicht überein Luftblase in der Messkammer Transportpuffer leer Leckage im Schlauchset nur Dialyse: Referenzierung nicht durchgeführt nur Dialyse: Referenzierung nicht aktuell
Kein oder negativer Messwert	Messzelle nicht richtig eingelegt Transportpuffer leer Schlauchset verstopft Leckage im Schlauchset Schlauchset veraltet Keine oder falsche Probenahmesonde angeschlossen

Fehler Fehlermeldung	Mögliche Ursache
Messwert schwankt stark	Luftblase in der Messkammer Messzelle nicht richtig eingelegt Schlauchset veraltet Filtration: Probenahmesonde dicht und oder Ventil- schlauch grünes Ventil nicht richtig eingelegt
Keine Verbindung mit Trace mon	IP-Adresse nicht richtig eingestellt PC: IP- Adresse nicht automatisch vergeben Netzkabel falsch oder fehlerhaft Gerät bootet, aber Programm startet nicht
Pumpe dreht sich nicht	Pumpenkassette abziehen und Motorwelle reinigen Pumpenschlauch strammziehen
Kein Fluss	Transportpuffer leer Kalibrierstandard leer Filtrationssonde verblockt Filter verstopft Schlauchset verstopft Leckage im Schlauchset

Tabelle 8: Problembeschreibung und -behebung bei BioPAT® Trace

Fehlermeldung: Kalibration gescheitert

Mögliche Ursache	Was ist zu tun?
1. Der Transportpuffer ist leer (Ist noch genügend Transportpuffer in dem Vorratsgefäß? Ist der Ansaugschlauch noch im Vorratsgefäß? Tropft der Puffer in den Tropfenzähler?).	Neuen Transportpuffer anschließen und den Schlauchsatz befüllen.
2. Eine Kalibrationslösung ist leer.	Neue Kalibrationslösung anschließen.
3. Silikonschläuche sind nicht richtig in die Ventile eingelegt.	Sitz der Ventilschläuche überprüfen und gegebenenfalls korrigieren.
4. Eine Luftblase ist in der Messkammer.	Luftblase mit Hilfe einer Spritze über die Spülleitung entfernen.
5. Schlauchsatz und eingestellte Applikation passen nicht zusammen (z.B. Schlauchsatz Dialyse und am Gerät ist Filtration eingestellt).	Applikation richtig einstellen.
6. Abquetschen eines Schlauchs (z.B. beim Einschrauben der Deckel in die Standardflaschen).	Quetschung entfernen.
7. Verstopfung im Schlauchsatz (Durch längeres stehen des Puffers im Schlauchsatz kristallisieren Salze aus. Diese Kristallisationen treten meistens an den Silikonschläuchen in den Ventilen auf. Ein anderer Fall von Verstopfung kann durch mikrobiellen Bewuchs auftreten.).	Verstopfung lösen oder falls nicht möglich einen neuen Schlauchsatz verwenden.
8. Leckage (Wird eine Verstopfung nicht behoben, so kann es zum Abplatzen von Schläuchen kommen.).	Leckage beheben oder falls nicht möglich einen neuen Schlauchsatz verwenden.
9. Sensor hat keinen richtigen Kontakt (Wird der Sensor nicht richtig eingelegt, so hat die Sensorrückseite keinen richtigen elektrischen Kontakt mit der Sensoraufnahme.)	Sensor ausbauen und wieder richtig einbauen.

Mögliche Ursache	Was ist zu tun?
10. Die Dialysemembran wurde falsch positioniert in die Sonde eingebaut (nur bei der Applikation DIALYSE).	Neue Dialysemembran korrekt in die Sonde einbauen.
11. Drei-Wege-Hahn wurde falsch eingestellt (nur bei der Applikation DIALYSE. Eine externe Probe wurde gemessen und der Drei-Wege-Hahn wurde nicht wieder zurückgestellt).	Drei-Wege-Hahn in die richtige Position bringen.
12. Softwareversionen vom BioPAT® Trace und PC passen nicht zusammen.	Passende Software verwenden. Gegebenenfalls die PC-Software „trace_mon“ von der Internetseite neu installieren.

Tabelle 9: Kalibrationsfehler und deren Behebung

10. Instandhaltung

10.1 Gerät

Wird eine Messreihe für kurze Zeit unterbrochen (maximal zwei Tage), so kann das System ohne Austausch des Schlauchsets weiter betrieben werden. Ist das BioPAT® Trace für längere Zeit außer Betrieb (länger als 7 Tage), ist im Anschluss das Schlauchset zu wechseln.



Eine Reinigung der BioPAT® Trace Gehäuseoberfläche ist nur mit einem feuchten Tuch durchzuführen.

10.2 Schlauchset

Verstopfte oder beschädigte Schlauchsets sind auszuwechseln und durch neue zu ersetzen.



Vor jeder Inbetriebnahme der Anlage sind alle Verbindungen mit Luer-Lock oder UNF-Fittings auf Dichtigkeit hin zu überprüfen und gegebenenfalls nachzuziehen.

11. Anhang

11.1 Datenblatt

Messprinzip	enzymatisch-amperometrisch
Messbereich (Glukose)	0,10 – 40 g/L
Messbereich (Laktat)	0,05 – 5 g/L
Messbereich (Methanol)	0,5 – 20 g/L
Messbereich (Ethanol)	1 – 40 g/L
Messfrequenz	bis zu 60 Messwerte/h
Messwertabweichung (Glukose)	≤ 3 % bei 5,0 g/L
Messwertabweichung (Laktat)	≤ 3 % bei 2,5 g/L
pH-Bereich des Mediums	4,8 – 9,2
Standzeit der Enzymelektrode	30 Tage oder 5000 Analysen
Umgebungstemperatur	15 – 35 °C
Umgebungsluftfeuchtigkeit	10 – 90 %
Schnittstellen	RS 232, Ethernet
PC zur Ansteuerung	Betriebssystem Windows XP, Windows 7
Analogausgang	0..10 V 0..20 mA 4..20 mA
Eingangsspannung	100..120 220..240 V ~; 50/60 Hz
Abmessungen in mm (B × H × T)	120 × 170 × 200
Gewicht	1,8 kg

Tabelle 10: Technisches Datenblatt

Sartorius Stedim Biotech GmbH
August-Spindler-Str. 11
37079 Goettingen, Germany

Phone +49.551.308.0
Fax +49.551.308.3289
www.sartorius-stedim.com

Copyright by
Sartorius Stedim Biotech GmbH,
Goettingen, Germany.
All rights reserved. No part of
this publication may be reprinted
or translated in any form or by any
means without the prior
written permission of Sartorius
Stedim Biotech GmbH.
The status of the information,
specifications and illustrations
in this manual is indicated by
the date given below.
Sartorius Stedim Biotech GmbH
reserves the right to make changes
to the technology, features,
specifications and design of the
equipment without notice.

Status:
February 2013,
Sartorius Stedim Biotech GmbH,
Goettingen, Germany

Printed in Germany on paper that
has been bleached without any use
of chlorine. | W
Publication No.: SLL6006-d13022
Order No.: 85032-541-54
Ver. 02 | 2013